République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique
Université de Médéa
Faculté des Sciences

Polycopié de cours:
Expérimentation Animale

Selon le programme pédagogique officiel du Licence: Biologie et Physiologie Animale, Sciences Biologiques, Sciences de la Nature et de la Vie

Dr. Amina DERBOUZ ROUIBATE
Maître de Conférences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
(SNV)

Validé par le Conseil Scientifique de la Faculté des Sciences N° 15 du 11 Juin 2023.
Numéro de série: .....

Année universitaire 2022-2023

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique

Université de Médéa

Faculté des Sciences

Expérimentation animale

L3 Biologie et Physiologie Animale

Dr. Amina DERBOUZ ROUIBATE

Année universitaire 2022-2023

Fiche de contact :

Faculté : Sciences
Département : Sciences de la Nature et de la Vie (SNV).
Public cible : Licence : Biologie et Physiologie Animale

Semestre : 6ème Semestre
UE : Unité d'Enseignement Méthodologie 2
Matière : Expérimentation animale
Crédits : 4
Coefficient : 2
Enseignant responsable de la matière : DERBOUZ ROUIBATE Amina
Contact : e-mail : mounader@hotmail.com

Présentations du cours

Le cours expérimentation animale s'adresse aux étudiants de la troisième année : Licence, Biologie et Physiologie Animale. Il se déroule en générale au deuxième semestre.

Le but du module est de faire acquérir les connaissances, théoriques et pratiques, de base sur l'expérimentation animale et les bonnes pratiques d'utilisation des animaux de laboratoire ainsi de pratiquer les conditions de l'expérience en respectant l'éthique et la réglementation en expérimentation.

Objectifs :

- Permettre de maîtriser la théorie et la pratique relatives à l'expérimentation sur les animaux de laboratoire conformément à la réglementation en vigueur.
- Former les étudiants aux bonnes pratiques en expérimentation animale.
- Prétendre à la conception, à l'encadrement et à la réalisation de projets utilisant des animaux vertébrés vivants.
- Apporter des compétences scientifiques et techniques spécifiques à l'expérimentation animale

Pré-requis :

L'étudiant doit avoir :

- Des connaissances de base sur la biologie cellulaire, l'anatomie et la physiologie des animaux de laboratoire.
- Des connaissances sur les techniques expérimentales.

Mode d'évaluation :

Contrôle continu et Examen semestriel.

TABLE DES MATIÈRES

Présentations du cours

Expérimentation animale…….....1

Ethique en expérimentation animale……6

Les animaux de laboratoire et les animaux transgéniques……11

Bonnes pratiques en expérimentation animale……...18

Animaleries et unités d'expérimentation…….24

Manipulation sur l'animal de laboratoire……28

Méthodes et voies d'administration……..35

Méthodes de prélèvement de sang…….39

Analgésie, Anesthésie et Euthanasie……..44

Références bibliographiques

Expérimentation animale

1-Introduction

Dans de nombreuses disciplines scientifiques, l'animal sert de modèle d'étude de la morphologie, de l'anatomie, de la physiologie pour mieux maitriser les différents systèmes du corps humain voir les similitudes existantes entre l'animal et l'homme. Ainsi, la souris constitue l'espèce la plus proche dont le degré de similitude est de 99%.

La recherche appliquée utilise l'animal pour étudier certaines pathologies à fin de mieux les maitriser et d'établir des traitements appropriés.

L'expérimentation animale consiste à toute manipulation pratique effectuée sur des animaux vertébrés vivants selon des protocoles validés par le comité scientifique, visant à étudier un paramètre quelconque, la mise en évidence d'une molécule…etc.

Alors que, les expériences effectuées sur les animaux invertébrés, les formes embryonnaires des vertébrés ovipares, voir le suivi du comportement des animaux qui ne leur occasionnent aucune souffrance ou douleur ne rentrent pas dans le cadre de l'expérimentation animale.

En expérimentation animale, l'animal est utilisé comme substitut ou « modèle », afin de mieux comprendre la physiologie de notre organisme et sa réponse aux différents facteurs ou prévoir ce qui se passe chez l'être humain.

L'expérimentation animale est une pratique controversée.

• Beaucoup de personnes pensent qu'elle cause des souffrances inutiles aux animaux sans apporter un véritable bénéfice aux humains.

• D'autres personnes pensent, au contraire, que l'expérimentation animale est d'une grande utilité car elle permet de comprendre et de prédire ce que ce passe chez l'homme.

La question de l'intérêt de l'utilisation des animaux fait toujours une polémique quant à son intérêt…

2- Les avantages et les contraintes de l'expérimentation animale

2-1 Les avantages :

L'expérimentation animale est nécessaire pour :

- Comprendre le fonctionnement normal et pathologique du vivant
- Elucider les mécanismes de vulnérabilité et de résistance aux infections
- Produire des vaccins

Ces connaissances permettront de :

- Prévenir ou limiter l'apparition de nombreuses pathologies

- Trouver des traitements aux grandes pathologies : maladies neurodégénératives, cancers, troubles du métabolisme… etc
- Mettre au point de nouveaux médicaments et de nouvelles techniques chirurgicales et exploratoires.

2-2 Les contraintes

Bien que l'animal est similaire à l'homme mais il n'étant pas strictement identique au modèle humain, il existe certaines différences liées à chaque espèces. Ainsi les données obtenues ne peuvent être appliquées que dans une certaine marge.

Selon l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS), « dans certains cas, la transposition à l'homme de résultats obtenus sur des animaux ne donne pas toujours des résultats vérifiés dans la réalité ».

Par ailleurs, la non maitrise des conditions de l'expérimentation à savoir : le choix de l'espèce animal, les conditions d'élevage et d'hébergement, qui peuvent influencer le comportement de l'animal, sont susceptibles de fausser les résultats obtenus lors d'expérimentations.

But de l'utilisation des animaux de laboratoire

Le but de l'utilisation des animaux au laboratoire peut être expliqué en deux points :

- Définir l'objectif de cette utilisation : connaitre l'effet d'un produit ou médicament sur l'homme, déterminer les dose létales, toxicité aigues ou chroniques…etc.

- **Le choix de l'animal** : Quel animal utiliser pour un test donné.

Le choix des animaux est lié à l'objectif de l'expérimentation et dépend du type de recherche.

Si l'on veut, par exemple, étudier les effets pharmacologiques et toxicologiques de nouveaux traitements, qu'ils soient médicamenteux ou chirurgicaux, dans ce cas, l'utilisation d'animaux de grande taille (porc, chiens, singes…) est recommandée. Bien que les petits rongeurs soient aussi utilisés, ils sont trop différents de l'homme.

Le choix du modèle animale dépend aussi des similitudes entre le modèle animal choisi et l'homme. Par conséquence, si le modèle animale est très différent de l'homme, alors des problèmes d'interprétation des résultats seront posés. Le rat ou la souris sont souvent privilégiés car ce sont les espèces les plus définies génétiquement et qui possèdent le plus de données de références scientifiques.

4- Utilisation des animaux à des fins expérimentales

L'animal n'est pas un outil, c'est un être sensible, il subit stress et douleur et il se souvient des souffrances vécues. Certaines pratiques expérimentales induisent un stress important à l'animal et risquent par conséquence de fausser les résultats recueillis juste après. Pour des raisons de bien de l'animal mais aussi pour des raisons scientifiques, il est recommandé que les conditions de détention et d'expérimentation doivent :

- Se faire dans le respect de l'animal
- Prendre en compte son aptitude à souffrir
- Respecter ses besoins vitaux
- Habituer l'animal aux différentes manipulations et appareils de contention avant le début réel de la recherche.

5- Prix Nobel de Médecine et de Physiologie

L'importance de l'expérimentation animale est fondamentale et l'illustration la meilleure c'est la liste des travaux des lauréats des Prix Nobel de Médecine et de Physiologie.
Entre 1901 et 2002, la plus prestigieuse distinction scientifique a été attribuée 68 fois à des chercheurs qui ont eu recours à l'expérimentation animale au cours de leurs recherches.

- **1901 :** Développement d'un sérum anti-diphtérique, E.A.von Behring **(cobayes);**
- **1904 :** Découverte de la physiologie de la digestion, I.P. Pavlov **(chien)** ;
- **1923** : Découverte de l'insuline et du mécanisme du diabète, F.G.Banting, J.J.R.Macleod **(chiens, lapins, poissons);**
- **1924 :** Découverte de l'électrocardiogramme, W. Einthven **(chien) ;**
- **1933** : Découverte du rôle des chromosomes dans l'hérédité, T.H Moragn (**drosophiles);**
- **1944** : Découverte des fonctions spécifiques des cellules nerveuses, J.Erlanger, H. S. Gasser **(chat) ;**
- **1945 :** Découverte de la pénicilline, A. Fleming, E.B.Chain, H.Florey **(souris);**
- **1952 :** Découverte de la streptomycine, premier antibiotique efficace contre la tuberculose, S.A.Waksman **(cobayes);**
- **1964 :** Découverte de la régulation du métabolisme du cholestérol et des acides gras, K.E.Bloch, F.Lynen **(rats);**
- **1971 :** Découverte du mécanisme d'action des hormones, E.Sutherland **(foie de mammifère)**;

- **1987 :** Découverte des principes génétiques gouvernant la diversité des anticorps, Tonegawa Susumu **(embryons de souris);**
- **1990 :** Mise au point des techniques de transplantation d'organes, J.E.Murray, E.D.Thomas **(chiens);**
- **2003 :** Découverte concernant l'IRM, Paul C.Lauterbur, Peter Mansfield (**grenouilles).**

6- Règles générales en expérimentation animale

Enoncée pour la première fois en 1959 par Russell-Burch « The Principles of Human Experimental Techniques » afin de fixer des lignes de conduite pour l'expérimentation animale.
L'Homme a l'obligation morale de s'assurer que la santé et le bien-être des animaux utilisés en recherche ne sont pas inutilement menacés ;
En générale et afin de simplifier les règles et les pratiques en expérimentation, les laboratoires de recherche ont l'obligation d'appliquer la règle appelée **la règle des trois « R »** : **Réduire, Raffiner, Remplacer.**

Réduire : pour tous les nouveaux projets, les équipes de recherche doivent fournir un protocole expérimental détaillé et une estimation du nombre minimum d'animaux requis pour obtenir de résultats statistiquement significatifs et exploitables.
S'il est essentiel d'utiliser le plus petit nombre d'animaux possibles, il est également important d'éviter que cet effort de réduction n'affecte la fiabilité des résultats. Par conséquent, Une réflexion biostatistique doit donc être intégrée à la construction du projet.
Raffiner : sélectionner un modèle qui reproduit le plus fidèlement possible la pathologie étudiée. Limiter l'angoisse, l'inconfort et la douleur associés aux procédures expérimentales. Aucun résultat fiable ne peut être obtenu à partir d'animaux dans des conditions de stress.

- Animal doit être bien traité et protégé contre les souffrances inutiles et les maladies
- Animal doit être bien gardé et maintenu dans un environnement qui préserve sa bonne santé et lui permettre d'agir naturellement.
- Mimer les conditions de vie de l'animal dans la nature (habitat, nourriture, température…)
- Anesthésie et analgésie
- Habituation des animaux pour diminuer le stress
- Enrichissement de l'environnement des animaux
- Utiliser les procédures d'euthanasie appropriées

Remplacer : utiliser des méthodes de recherche alternatives dans la mesure du possible.
Il existe des méthodes dites « alternatives » pour réduire le nombre d'animaux utilisés à des fins scientifiques. Ainsi, de nombreuses hypothèses de recherche peuvent être testées in vitro

(cellules en culture) ou ex vivo (organes ou tissus isolés). Ces méthodes nous permettent d'étudier les mécanismes associés à des pathologies ou de tester l'efficacité potentielle des traitements.

Les chercheurs doivent se poser la question, est ce qu'on ne peut pas se passer de l'utilisation de l'animal et le remplacer par une autre étude ou technique ?

Effectivement, certaine études ont épargner à l'animal sa souffrance, tel que la cellule sanguine qui a servie comme modèle de membrane biologique, les cultures cellulaires et les peaux artificielles qui ont servis comme champ d'application de certains produits cosmétiques et de tester leur irritabilité sans devoir recourir à l'utilisation de l'animal.
Induction de l'ischémie cérébrale sur des cellules nerveuses en culture afin d'épargner la douleur que provoque un AVC à un animal
Toutefois, le recours aux cellules isolées a ses limites d'utilisation car la réaction d'une cellule isolée à un traitement n'est pas identique à ce qu'elle est dans un organisme entier. Ce qui fait que nous ne pouvons pas nous en passer totalement de l'animal dans nos recherches.

Ethique en expérimentation animale

L'animal est utilisé par l'Homme pour comprendre le fonctionnement du vivant depuis l'antiquité. Aujourd'hui la recherche sur l'animal s'est structurée et est encadrée par des textes réglementaires.

L'expérimentation animale est aujourd'hui soumise à une réglementation très stricte. Elle soulève de nombreuses questions éthiques, tant de la part du public que des expérimentateurs. Malgré le développement constant des "méthodes alternatives", le recours à l'animal en sciences reste essentiel. Les expérimentations animales réalisées en laboratoires de recherches doit être effectuées dans des conditions conformes à la réglementation et donc aux textes réglementaires applicables. Les évaluations éthiques doivent permettre de comprendre la nécessité scientifique d'utiliser des animaux vivants, ainsi que la raison du choix des espèces animales.

1- Notion de Bien-être animal

Le bien-être animal est souhaité par la communauté scientifique. Il est faux d'affirmer que le mouvement antivivisection est à lui seul à l'origine du développement de nouvelles méthodes. Les chercheurs jouent un rôle important pour le bien-être animal et l'utilisent pour améliorer leurs expérimentations, pour être en accord avec leurs propres principes éthiques, et pour mieux faire reconnaître leurs travaux auprès de leurs pairs. Ils préfèrent mener une expérimentation où ils contrôlent tous les paramètres plutôt que d'assister à la souffrance sans pouvoir intervenir. Selon RUSSELL et BURCH : .Good welfare is a pre-requisite for good science. (Le bien-être est un pré requis pour une science de bonne qualité). Il est, en effet, de plus en plus admis qu'un mauvais état de santé, une douleur ou une souffrance chez un animal de laboratoire sont des facteurs de biais indésirables dans la recherche ; ces variables pouvant être à l'origine de nombreux problèmes lors de l'interprétation des études. A ce sujet, l'Académie des Sciences conclut : .l'animal qui souffre ne peut donner des indications physiologiques valables pour l'expérimentation ; les conditions de l'expérience seraient dès le départ faussées. En effet, la souffrance et la douleur agissent directement sur le système nerveux autonome et sur le système endocrinien. Ces systèmes vont, en cas de détresse, interférer avec la plupart des fonctions de l'animal : cardio-vasculaire (tachycardie, vasoconstriction, hypertension artérielle), respiratoire (tachypnée), métabolique (hyperglycémie), urinaire (concentration des urines), etc.. De tels effets rendent alors difficile l'interprétation des variations : est-ce dû au produit testé ou à l'effet de la souffrance ?

2- Définition : Ethique

Science de la morale ; art de diriger la conduite

L'éthique est l'ensemble des règles de conduite (recommandation) définies par la morale. Elle complète la législation.

- Réflexion évolutive, pluridisciplinaire
- Vise à établir un équilibre aussi harmonieux que possible entre le progrès des sciences, des techniques et la place de l'homme et l'animal dans la société.
- Naissance du traitement humanitaire des animaux.

3- Historique, Protection des animaux

Pythagore (VI^{e} siècle av. J.-C) et Empédocle (490-435 av. J.-C) considérés comme les fondateurs de l'éthique animale. Plus récemment, La loi du 10 juillet 1976 déclare officiellement l'animal comme un « être sensible». Depuis de nombreux textes ont complété la réglementation relative à la protection des animaux.

4- Missions du comité d'éthique : Est un lieu de dialogue et de réflexion

- Evalue et rend des avis motivés (justifiés) sur les projets ou procédures
- Acceptabilité éthique des choix (modèles, protocole et méthodologie) via l'analyse de l'objectif scientifique et des différentes facettes de l'expérimentation
- L'utilisation des animaux soit en accord avec la législation
- Evaluation de la douleur associée er prévention
- Révision des protocoles
- Mise en place des politiques institutionnelles de protection des animaux
- Visite des animaleries
- Formation et sensibilisation du personnel au niveau de l'institution
- Évaluation des protocoles (revue éthique des protocoles)
- Avis motivés, pouvant être assortis des recommandations, validité maximale de 5 ans, impliquant une nouvelle consultation du comité avec évaluation d'éventuelles avancées techniques ou scientifiques permettant de réaliser les interventions de façon plus éthique, voire de les remplacer par des méthodes alternatives.

5- Compositions des comités d'éthique : Pluridisciplinarité/ structure 5 membres minimum

- Un chercheur,
- Un technicien,
- Un zootechnicien,
- Un vétérinaire,
- Une personne extérieure (société civile)

5-1 Rôles des membres

- **Chercheur** : connaissance du (des) domaine (s) d'activité, Bien-fondé de l'étude, approche scientifique
- **Technicien** : approche technique, procédures et moyens mis en œuvre
- **Zootechnicien** : condition d'hébergement, de maintenance et de manipulation des animaux
- **Vétérinaire** : prise en charge des animaux, surveillance et soins tout au long de l'expérimentation, mais aussi tout au long de leur vie,
- **Personne extérieure de la société civile** :
- Regard nouveau, extérieur sur le projet d'expérimentation, garant de la compréhension du projet par toute personne de la société civile
- Appréciation du cout/bénéfice
- Crédibilité du comité.

6- Réglementation

La recherche sur les modèles animaux est régie par des lois et des règlements. Les textes européens et français sont régulièrement révisés avec une prise en considération croissante du bien-être de l'animal.

La première directive européenne sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques, adoptée en 1986 (directive 86/609), est une retranscription de cette convention. Elle a été révisée en 2010 (directive 2010/63) et doit être réexaminée avant fin novembre 2017. Cette directive européenne a elle-même été transposée en droit français en 2013 (décret 2013-118 associé à 5 arrêtés d'application).

Selon la directive européenne (1986), relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou d'autres fins scientifiques.

« Lors du choix entre procédures, devraient être sélectionnées celles qui utilisent le nombre minimal d'animaux, qui causent le moins de dommages durables, de douleurs, de souffrances et qui sont susceptibles de donner les résultats les plus satisfaisants».

Article : Respect de l'animal

L'éthique de l'expérimentation animale est fondée sur le devoir qu'a l'homme de respecter les animaux en tant qu'êtres vivants et sensible.

Article : Responsabilité individuelle

Tout secteur à des animaux en vue d'une expérimentation engage la responsabilité morale de chaque personne impliquée.

Article : Responsabilité des institutions

Les institutions sont moralement responsables des expérimentations pratiquées sur les animaux.

Article : Principes généraux

- Une réflexion sur le bien-fondé scientifique, éthique et sociétal du recours aux animaux doit précéder toute démarche expérimentale.
- Le recours aux méthodes et techniques visant à supprimer ou à réduire au strict minimum les atteintes aux animaux doit être systématiquement recherché.
- Le recours à l'avis d'un comité d'éthique doit précéder toute expérimentation impliquant des animaux.

Article : La démarche éthique

Rôle des comités d'éthique : chaque comité constitue un lieu de dialogue et de réflexion. Il donne des commentaires et des avis sur les projets d'expérimentation impliquant des animaux qui lui sont soumis, en se référant aux principes énoncés dans la présente Charte.

Ces avis sont motivés et peuvent être accompagnés de recommandations. Chaque comité d'éthique participe à la promotion de l'ensemble des principes éthique énoncés dans la présente Charte.

6-1 Les 8 points à connaître sur la directive européenne qui encadre la recherche animale

En Europe, la directive 2010/63/UE fixe la réglementation relative à la **protection des animaux utilisés à des fins scientifiques**. Vous trouverez ci-dessous les huit points clés pour vous aider à mieux comprendre ce règlement européen sur l'expérimentation animale :

1) Une directive est un **acte législatif européen**. La Commission européenne fait une proposition de directive, sur laquelle se prononcent le Parlement européen et le Conseil de l'Union européenne. La directive engage les pays membres à atteindre des objectifs spécifiques, avec un délai à respecter.

2) Les institutions européennes ont adopté le **22 septembre 2010** la directive 2010/63/UE qui remplace la directive 86/609/CEE datant de 1986 et établit les mesures pour la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques et éducatives.

3) Elle concerne tous les **animaux vertébrés** (mammifères, oiseaux, poissons, reptiles, amphibiens) et invertébrés **céphalopodes** (pieuvres, calmars, seiches).

4) L'utilisation de **primates** est limitée à la recherche fondamentale et médicale pour des maladies graves quand il est impossible d'utiliser d'autres espèces animales. Par contre, le recours aux **grands singes** (chimpanzé, gorille, orang-outan, bonobo) est interdit.

5) La directive impose le principe des 3R : le **remplacement** et la **réduction** de l'utilisation d'animaux de laboratoire autant que possible et le **raffinement** des méthodes expérimentales utilisées, des conditions d'élevage, d'hébergement et de soins.

6) Ce règlement considère que les animaux, à l'exception de ceux qui sont naturellement solitaires, doivent être logés en **groupes sociaux** stables formés d'individus compatibles.

7) L'**initiative citoyenne** européenne « Stop vivisection » a demandé l'abrogation de cette directive afin « *de présenter à la place une nouvelle proposition de directive visant à mettre fin à l'expérimentation animale* ». Le mercredi 3 juin 2015, la Commission européenne a rejeté cette initiative.

8) Les projets qui ont recours à l'expérimentation animale doivent faire l'objet d'une **évaluation éthique** afin d'obtenir une **autorisation** du ministère de la recherche et se soumettre aux **inspections** réalisées par les autorités nationales.

7- Ethique dans l'Islam :

- les droits des animaux en islam font partie de l'éthique qui comprend les règles du comportement humain envers toutes les créatures (êtres vivants).
- La corruption ou la destruction des écosystèmes est considérée comme un crime contre l'humanité.

L'animal de laboratoire est nécessaire. Cependant, son utilisation est fortement codifiée (réglementée) et de nombreux textes réglementaires visent à assurer sa protection et à éviter son utilisation abusive.

Une bonne formation de toutes les personnes impliquées dans les expérimentations animales est essentielle pour respecter ces exigences réglementaires et ces principes éthiques.

Le respect de l'animal doit être présent dans la conscience des scientifiques sans la pression du législateur.

« Lorsqu'on veut changer les mœurs (traditions) et les manières,
il ne faut pas les changer par les lois » **Montesquieu.**

« Science sans conscience n'est que ruine de l'âme» **RABELAIS, *Pantagruel***

Les animaux de laboratoire et les animaux transgéniques

Les animaux de laboratoire sont animaux destinés à être utilisés à des fins de recherche. Dans la plupart des cas, les animaux sont spécifiquement élevés afin d'avoir un certain statut physiologique, génétique, métabolique ou sanitaire spécifiques d'animaux exempts d'agents pathogènes.

L'homme s'est servi pour ses expérimentations de plusieurs espèces animales appartenant à différentes classes tel que les oiseaux, reptiles, poissons, toute fois le mammifère reste l'animal de choix, vu les ressemblances et similitudes anatomiques, physiologiques et pathologiques qu'il partage avec l'Homme.

Une bonne connaissance des modèles animaux s'avère donc précieuse dans un contexte où l'utilisation d'animaux vivants demeure nécessaire pour protéger les santés humaine et animale ainsi que l'environnement.

La souris constitue l'animal le plus utilisé en expérimentation animale et cela en raison des avantages qu'elle présente, à savoir, les facilités de son élevage, sa taille qui permet d'élever un grand nombre dans un espace réduit, avec des besoins nutritionnels peu coûteux ainsi que son cycle de vie court et sa prolificité qui permet d'avoir un nombre de petits important par portée.

En plus de la souris, y a d'autres rongeurs qui sont largement utilisés tel que le rat et le lapin, le chat et le chien sont utilisés le plus souvent en médecine vétérinaire, le singe, le porc ainsi que les animaux d'élevage tel que le bœuf et mouton utilisés dans le cadre de la recherche agronomique notamment dans le domaine de l'amélioration des paramètres zootechniques (paramètres de reproduction, de l'alimentation et de croissance).

L'animal de laboratoire n'est pas toujours utilisé tel qu'il est mais il subit le plus souvent des modifications génétiques ou pathologie induite qui font de lui un modèle d'étude.

1- Les différents modèles animaux

À cause de la grande variété des essais faisant appel à l'expérimentation animale, et la grande diversité des animaux, la connaissance de la biologie comparée et les caractéristiques essentielles des différentes espèces animales se révèle indispensable pour l'expérimentateur pour avoir des résultats fiables.

Définition : un modèle animal est un modèle permettant l'étude de la biologie ou des comportements normatifs, ou d'un processus pathologique spontané ou induit ayant un ou plusieurs aspects communs avec un phénomène équivalent chez l'humain ou d'autres espèces animales. Ils existent différents modèles animaux.

a-Modèle sauvage ou naturel : Ce modèle consiste aux animaux qui n'ont subi aucune modification ou manipulation, plutôt c'est des animaux chez qui des maladies existent naturellement que l'on retrouve chez l'homme tel que le diabète, l'hypertension artérielle les arthrites…etc.

b- Modèle expérimental : c'est un modèle chez lequel une pathologie est induite expérimentalement tel que le cancer ou encore le diabète sucré induit par l'injection de la streptozotocine qui est une molécule chimique qui provoque la destruction des cellules pancréatiques.

c- Modèle génétiquement modifiés : Ce modèle consiste aux animaux transgéniques qui ont subi une modification du code génétique dans le but d'induire une maladie qui existe chez l'homme pour mieux l'étudier chez l'animal, de cerner ses causes et de proposer d'éventuels traitements**.**

Ces manipulations consistent à l'insertion d'un fragment d'ADN d'une autre espèce telle que « **l'oncosouris** », le remplacement ou encore la neutralisation qui aboutit à des souches génétiquement modifiées telle que les souches « **knock-out** ».

d- modèle négatif

Ce modèle consiste aux animaux résistants à certaines affections ou maladies ce qui rend la recherche des causes (raisons) et des facteurs de résistance d'un grand intérêt pour la santé humaine.

e-Modèle orphelin

Ce modèle englobe les animaux présentant des maladies qui apparaissent spontanément et qui n'ont pas d'équivalence chez l'homme.

Exemple : la tremblante du mouton.

2- les souches génétiques

Une souche est un ensemble d'individus très homogènes, obtenus par croisements consanguins et sont aussi identiques que possible sur le plan génétique

A-Souris

La souris « Mus musculus » est l'animal le plus utilisé en recherche, il représente environ 60% du total des animaux de laboratoire.

La souris domestique ou ***Mus musculus*** fait partie de :

- L'embranchement : vertébrés.
- Classe : Mammifères.
- Ordre : Rongeurs.

- Sous- ordre : Myomorphes.
- Famille : Muridés.
- Sous famille : Murinés.

La souris a subi plusieurs manipulations génétiques qui ont abouti à la création de plusieurs souches qui répondent aux études à y effectuer.

Les souches les plus utilisées en recherche biologique fondamentale et médicale sont :

BALB/c : c'est la souris albinos de laboratoire, elle est issue de la souris domestique par induction d'une mutation au niveau du gène qui code pour la production de la mélanine.

La souris Nude : c'est une souris sans poils **« nue »,** cette souche est caractérisée par un thymus atrophié ou son absence totale.

Elle est utilisée le plus souvent dans les recherches sur les cancers en raison de l'absence des lymphocytes T, ce qui permet le développement de tumeurs pures sans contamination par d'autres cellules.

C57BL/6 ou « Black-6 » c'est la souris noire, c'est une souche polyvalente, utilisée dans le domaine de recherches menées sur le diabète et l'obésité. Elle constitue le fond génétique pour le développement des modèles transgéniques.



BALB/c



Souris nude



C57BL/6 « Black-6 »

Les animaux transgéniques : Il s'agit d'animaux dont le génome a été modifié de manière stable et qui vont transmettre cette modification à leur descendance. La transgénie consiste, dans certains cas, à exprimer un gène étranger ou surexprimer un gène, dans d'autre cas, à réprimer l'expression d'un gène.

La plupart des animaux transgéniques ne présente pas de risque car le transgène n'est pas « mobilisable», c'est-à-dire qu'il ne peut pas sortir du génome où il a été inséré.

Les souches transgéniques :

Les souches transgéniques correspondent aux animaux ayant reçu un fragment d'ADN d'une autre espèce dans leur génomes ou ceux chez qui un ou plusieurs gènes ont été inactivés.

Example :

***La souris « Doogie »** cette souche est dotée d'une intelligence qui dépasse celle des autres souris en raison de l'amélioration de l'activité des récepteurs N-Méthyl-D-Aspartate « NMDA » du cerveau.

***L'oncosouris** : c'est une souris qui a reçu un oncogène humain ce qui la prédispose au développement de cancers.

***les souris knock-out** : cette catégorie englobe l'ensemble des souris présentant un ou plusieurs gènes inactivés.

Cold-tolerant mice : elle est caractérisée par une sensibilité exagérée au froid en raison de l'absence d'un canal sodique.

Fat-mice : c'est une souris obèse prédisposée au développement du diabète en raison de l'inactivation du gène qui code pour l'enzyme carboxypeptidase E.

La souris Mdx : c'est une souris dépourvue du gène qui code pour les dystrophines, c'est un modèle utilisé dans l'étude de la Dystrophie Musculaire de Duchenne.

B- RAT.

Le rat de laboratoire constitue la deuxième espèce la plus utilisée après la souris.

Le rat domestique ou ***Rattus norvegicus*** fait partie comme la souris de :

- L'embranchement : vertébrés.
- Classe : Mammifères.
- Ordre : Rongeurs.
- Sous- ordre : Myomorphes.
- Famille : Muridés.
- Sous famille : Murinés.

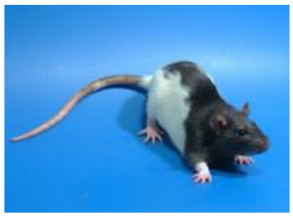
Rattus Norvegicus est le rat domestique à partir duquel ont étaient obtenues toutes les autres souches qui répondes aux besoins spécifiques de chaque étude.

***Le rat wistar :** c'est la souche la plus répandue des rats de laboratoire à partir de laquelle se sont développées d'autres souches.

Le rat wistar est utilisé dans les recherches biologiques et médicales, caractérisé par une tête large, de longues oreilles et la longueur de la queue est inférieure à celle du corps.

***Le rat Long-Evans :** cette souche est issue d'un croisement entre la femelle wistar avec un male sauvage gris, elle a pris le nom du Dr Long Evans qui l'a développé.

Elle sert de modèle pour les recherches menées sur l'obésité et le comportement.



Long-Evans

Le rat BBDP (Biobreeding Diabete Prone), cette souche représente le modèle négatif qui développe une auto immunité au diabète type 1, elle partage beaucoup de caractéristiques avec le l'Homme atteint de diabète type1, de ce fait, elle est largement utilisée dans les recherches menées sur cette pathologie.

***Le rats Sprague-Dawley :** c'est une souche développée à partir du rat wistar, elle est largement utilisée dans la recherche médicale, caractérisée par son calme et docilité.

***Le rat Zucker** : c'est une souche obèse présentant une mutation au niveau du récepteur de la leptine (hormone contrôlant la satiété).

Elle constitue le modèle type pour les recherches menées sur l'obésité et l'hypertension artérielle.

***Le rat Hairless :** c'est un rat nu (sans poils) du à une mutation naturelle non induite par l'homme.

Comme pour la souris nude, le rat Hairless est caractérisé par l'absence du thymus, ce qui compromit gravement sont système immunitaire.

***Le rat Brattleboro** : c'est un rat qui présente une mutation naturelle au niveau du gène qui code pour l'hormone antidiurétique « la vasopressine » de ce fait l'équilibre hydrominéral se trouve perturbé et les sujet en question sont atteint de diabète insipide caractérisé par une polyurie (émission d'urine abondante) et une polydipsie (soif excessive).

*** le rat Knockout « rat KO » :** c'est une souche de rat chez qui un ou plusieurs gènes ont été inactivés en mimant les maladies humaines. Ce modèle sert à l'étude de la fonction des gènes en question et la découverte des médicaments appropriés.

Le rat KO est utilisé principalement pour comprendre les mécanismes de certaines maladies telles que le diabète, le parkinson, l'hypertension artérielle et l'Alzheimer.

***Le rat SHR** le Spontaneously Hypertensive Inbred Rat (Rat Spontanément "Hypertendu") : cette souche correspond au modèle sauvage présentant une hypertension artérielle naturelle.

C- Lapin

Depuis toujours, les chercheurs semblent s'intéresser aux lagomorphes. En effet, ce modèle animal convient relativement bien, car il est phylogénétiquement plus proche de l'homme.

Le lapin est un animal timide qui aime le calme. Il est toujours inquiet. Il se reproduit vite ; cette productivité élevée est associée à une ovulation permanente induite par les saillies de courtes durées, de gestation et de lactation.

Le lapin est un animal peureux, il peut parfois être nerveux dans sa cage et il tape le sol par sa patte. Il peut mordre et griffer et il a une bonne détente dans ses pattes arrière.

Sa manipulation est simple et sa taille facilite le prélèvement d'échantillons de tissu et de sang, ainsi que la production des antisérums. Trois races principales sont généralement utilisées en recherche : le **néo-zélandais blanc** ou **NZW** (New Zealand White), le **hollandais** et le **bélier**

Le lapin est largement utilisé dans les études de toxicité (pyrogène, tératogénicité).

De plus, il est couramment utilisé en sérologie car il produit facilement des anticorps dirigés contre une multitude d'antigènes.

Son utilisation en ophtalmologie revient au 17e siècle, puis il a constitué un excellent modèle d'investigation pour les études pharmacologiques de transfert placentaire de médicaments, métabolites et stéroïdes au vu la placentation similaire à celle rencontrée dans l'espèce humaine.

Il représente à l'heure actuelle un modèle approprié pour l'investigation des systèmes cardiovasculaires, ostéo-articulaires, et respiratoires, il est encore utilisé en ophtalmologie, oncologie et diabétologie. Il reste un modèle incontournable pour l'étude de l'hypertension et l'athérosclérose ; ceci pour des raisons évidentes d'hébergement facilité et de gestion quotidienne. Le lapin constitue également un outil adéquat pour l'étude de l'arthrose et de sa pathogenèse, et pour la validation de nouvelles technologies d'imagerie ostéo-articulaire.

d). Cobaye : le *Cavia porcellus* est utilisé au laboratoire dans les tests cutanés aux xénobiotiques : tests de maximisation (administration des antigènes par voix intradermique) et test de sensibilisation cutanée (antigène administré sur la peau).

e). Phoque : (*Phoca vitulina*) son utilisation reste limitée. Le phoque est généralement utilisé pour l'analyse des paramètres fonctionnels des cellules immunocompétentes sanguines.

f). Oiseaux : parmi les oiseaux utilisés le canard. Il est utilisé comme modèle de résistance aux antivirale.

g). Poisson : ce sont des espèces sentinelles/Biomarqueurs d'immuntoxicité. L'espèce de choix est *Oncorhynucus mykiss*. Les poissons sont aussi utilisés dans les tests d'histopathologie du système immunitaire.

h). Singe : le singe est utilisé dans l'évaluation de risque et l'extrapolation des données à l'homme. Exemple, lors de l'étude d'un nouveau médicament. Les espèces les plus utilisées sont : *Macac amulata* et *Macac afascicularis*.

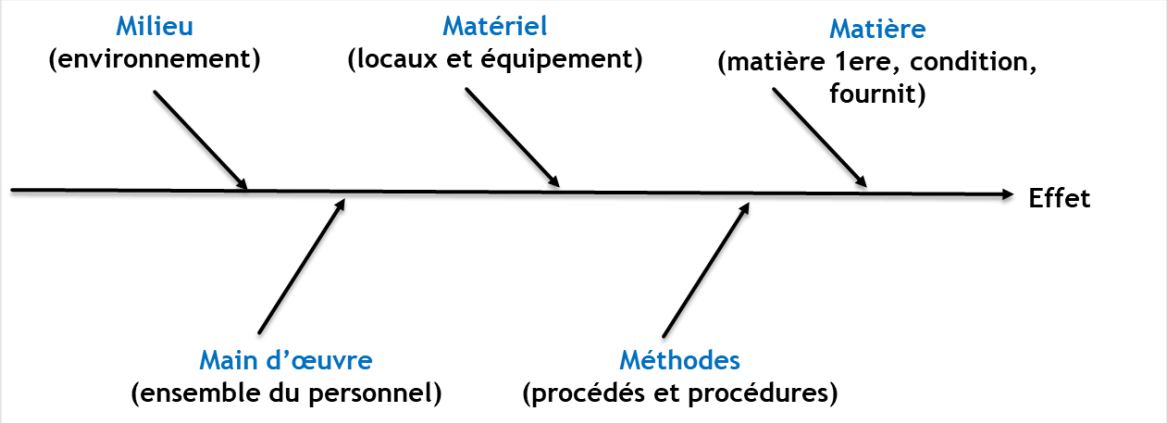
Bonnes pratiques en expérimentation animale

Les animaux de laboratoire sont à la fois :

- Des êtres sensibles. C'est à ce titre que leur origine et leurs conditions d'hébergement et d'utilisation sont régies par un ensemble de textes réglementaires ayant pour objet de leur assurer la meilleure protection possible en accord avec les objectifs du projet scientifique ;
- Des "réactifs biologiques", c'est-à-dire "un matériel" qui doit être sélectionné et entretenu avec les mêmes exigences que les autres instruments scientifiques" (F. Rousselet, dans Les animaux de laboratoire. Ethique et bonnes pratiques. M-J. Laroche, F. Rousselet Paris, Masson, 1990).

Définition des BPEA : Ensemble de règles de bon sens qui visent à apporter par une plus grande rigueur une meilleure qualité aux essais.

Champs d'application :



I- Bonnes pratiques en expérimentation animale : MATERIEL

Principales normes des locaux d'hébergement :

Une animalerie doit être conçue pour faciliter la recherche sur des animaux et pour minimiser les variables expérimentales tout en répondant aux besoins physiologiques, sociaux et comportementaux des animaux d'expérimentation.

1- L'emplacement :

Les installations animalières doivent être situées

- Dans un endroit où il y a un minimum d'accès pour le public ; tout en permettant un accès facile et sécuritaire pour les utilisateurs.
- Il faut prévoir un accès direct à l'extérieur pour faciliter la réception des animaux, des fournitures et l'élimination des déchets.
- Pour les animaleries qui se situent aux étages supérieurs, elles doivent être équipées d'au moins deux monte-charges l'un pour le matériel sale et l'autre pour le matériel propre

2- Les principaux locaux

- ✓ pièces d'hébergements séparées pour chaque espèce animale,
- ✓ un local isolé de quarantaine, pièces d'expérimentation et d'autopsie,
- ✓ une salle d'opération, pièce de stockage de la nourriture et des litières,
- ✓ un local séparé pour entreposer les cages propres et le matériel nécessaire à l'animalerie,
- ✓ un local de nettoyage et de lavage

3- Mesures de sécurité

- Dispositifs d'alarme sur les systèmes de ventilation et de climatisation.
- Dispositifs de secours et procédures d'urgence en cas de panne des équipements
- Affichage des procédures d'urgence.
- Procédures écrites précisant les modalités d'élimination des déchets et des cadavres
- Maintien absolu des locaux dans un état de propreté irréprochable.

II- Bonnes pratiques en expérimentation animale : MATIERE

Choix de l'animal :

Selon le type de recherche, les rats ou les souris sont souvent préférés. C'est parce qu'il s'agit des espèces les mieux définies génétiquement et qu'elles possèdent le plus de données de référence scientifiques.

Origine des animaux : les espèces utilisées en expérimentation doivent obligatoirement être obtenues auprès de centres d'élevage spécialisés ;

Réception des animaux : Dès réception, les animaux doivent être examinés et installés dans un local de quarantaine. Une période d'acclimatation est recommandée avant d'utiliser l'animal (rongeurs : 7 jours).

Contrôle : Les conditions d'élevage, de transport et de stabulation des animaux destinés à l'expérimentation sont contrôlées par des vétérinaires-inspecteurs (~1 visite/mois).

- ➢ **Les conditions d'hébergement des animaux** de laboratoire doivent viser à leur apporter le maximum de bien-être et à satisfaire leurs besoins physiologiques et éthologiques.

Principales normes :

- Dimensions minimales des cages réglementées par décret
- Change litières régulier (3x par semaine)
- Contrôle de l'alimentation et des boissons (Doivent satisfaire les besoins physiologiques de l'animal)
- Rythmes jour / nuit réguliers
- Niveau sonore limité par une isolation efficace.

L'accès aux 'animaleries est strictement réservé au personnel autorisé.

Les personnels pénétrant dans l'animalerie doivent revêtir une tenue propre adaptée au niveau de sécurité recherché (au minimum des sur bottes et une blouse).

Des registres d'entrée-sortie de tous les animaux afin d'assurer une parfaite traçabilité

III- Bonnes pratiques en expérimentation animale : MILIEU ET ENVIRONNEMENT

- **Les conditions environnementales**

1. Température :

La température des locaux des animaux doit être surveillée quotidiennement et contrôlable à ± 1°C, se situe dans un intervalle compris entre 20 et 24°C.

2. Humidité relative :

L'humidité relative doit être maintenue entre 40 et 60 % selon l'espèce, et contrôlée à ±5%. Le degré hygrométrique favorable est le plus souvent celui des humains, soit autour de 50%. S'il est difficile de contrôler l'humidité intérieure, doit installer un déshumidificateur ou un humidificateur.

3. Chauffage, ventilation et climatisation (CVC) :

Le système doit fournir de l'air pur (propre) à des niveaux de température et d'humidité spécifiés pour les animaux hébergés et doit évacuer complètement l'air pollué. Ils doivent fonctionner sans arrêt, 24 heures par jour, et 365 par an.

4. Eclairage :

L'éclairage doit fournir une bonne visibilité et une lumière uniforme et sans reflets. Il faut Assurer un éclairage artificiel contrôlé pour satisfaire aux exigences biologiques et au comportement des animaux. La photopériode est la caractéristique qui influence le plus les animaux d'expérimentation. Elle est en général programmée 12h/12h à l'aide d'une horloge temporisatrice. Elle influence les rythmes biologiques en particulier la reproduction. La lumière est contrôlée à l'aide d'un luxmètre.

5. Pression différentielle :

Les pressions différentielles peuvent être utilisées pour créer une barrière d'air entre deux zones de l'animalerie. Les pressions différentielles entre les zones de l'animalerie doivent être établies de manière à ce que l'air circule des zones les plus propres vers les zones les plus sales ou potentiellement contaminées.

6. Isolation phonique : Niveau Sonore

La séparation des aires réservées à l'homme et à l'animal permet de réduire les perturbations subies par les animaux hébergés dans l'installation. Les animaux bruyants, tels que chiens,

porcs, chèvres et primates non humains, doivent être isolés afin de ne pas perturber les animaux plus calmes tels que rongeurs, lapins et chats. L'insonorisation des locaux d'hébergement et des salles d'expérimentation doit être envisagée afin d'atténuer les effets des sources de bruit. Comme de nombreuses espèces sont sensibles aux hautes fréquences, il doit être tenu compte de la situation d'éventuelles sources d'ultrasons.

➢ **Conditions du matériel d'hébergement**

- La nature des cages ou enclos et des dispositifs d'abreuvement et d'alimentation sont propres à chaque espèce.
- Ils doivent être construits en matériaux évitant à l'animal de se blesser et avoir des dimensions suffisantes pour lui permettre de se mouvoir librement.

Dimensions minimums recommandées dans le décret 2001-131.

Publié au journal officiel du 6 février 2001

Espèce	Surface au sol (cm^2)	Hauteur mini (cm)
Souris	180	12
Rats	350	14
Hamster	180	12
Cobaye	500	18
Lapin 1 kg	1400	30
Lapin 3 kg	2500	35
Lapin 5 kg	3600	40

IV- Bonnes pratiques en expérimentation animale : MAIN D'OEUVRE

L'établissement d'expérimentation animale doit nommer un responsable de l'état sanitaire des animaux Cette personne est de préférence un vétérinaire ou un chercheur ayant l'autorisation d'expérimentation sur les animaux vivants .Elle est chargée :

- ➢ De la mise en place d'un suivi sanitaire régulier des animaux.
- ➢ Du contrôle des conditions d'hébergement et de soins prodigués aux animaux.
- ➢ Du contrôle régulier des équipements et des installations de l'animalerie.

La formation du personnel d'animalerie est fondamentale. Celui-ci doit posséder les qualifications initiales requises et recevoir une formation continue spécifique à son poste de travail

- Le niveau I pour les personnes responsables du choix des axes de recherche, des protocoles et des espèces utilisées,

- Le niveau II pour les techniciens manipulateurs qui ne doivent pratiquer que sous la direction et le contrôle d'une personne elle-même « autorisée »
- Le niveau III pour les animaliers chargés de l'entretien et des soins aux animaux !

Les personnes pratiquant des actes chirurgicaux sur les animaux devront de plus suivre une formation spécifique.

V- Bonnes pratiques en expérimentation animale : METHODES

Les protocoles • Le but :

- Obtenir des résultats fiables et reproductibles quelle que soit la personne qui suit le protocole.
- Ecrit en premier lieu par la personne qui effectue le travail puis relu par le responsable.

Toute modification doit être indiquée, motivée et datée.

Le protocole doit comprendre l'objet et le domaine d'application de l'activité concernée, ce qui doit être fait, quand, où et comment : quels matériels, équipements et documents doivent être utilisés et comment cela doit être maitrise et enregistré.

VI- Déroulement « type » d'une étude selon les bonnes pratiques de laboratoire (BPL)

1- Préparation :

- Choix du modèle expérimental en fonction du but de l'étude et de la bibliographie

- s'assurer de la nécessité d'utiliser des animaux ;

- choisir l'espèce correspondant le mieux aux expériences envisagées ;

- bien planifier ses expériences de façon à réduire au maximum le nombre d'animaux utilisés ;

- éliminer les causes de douleur, d'inconfort et de stress de l'animal ;

- organiser des conditions d'hébergement respectant au mieux le bien-être des animaux.

Lorsque ces expériences peuvent entraîner des souffrances, elles doivent être pratiquées sous anesthésie, éventuellement accompagnée de traitement analgésique.

- Choix des groupes contrôle : modèle non pathologique / véhicule …
- Rédaction d'un projet justifiant et détaillant l'étude :

* Rationnel de l'étude
* détail des méthodes utilisées
* état des connaissances
* les doses et modes d'administration de la procédure thérapeutique à l'étude

- Planification de l'étude

2- Réalisation :

- Toutes les données obtenues doivent être répertoriées dans un cahier de laboratoire écrit à l'encre indélébile (les ratures doivent être paraphées), chaque page étant datée et signée.
- Eléments devant apparaître dans le cahier de laboratoire :

* les méthodes utilisées
* les détails concernant l'étalonnage des appareils
* tout événement indésirable
* toute modification de protocole expérimental
* le détail des expériences réalisées chaque jour
* l'intitulé des fichiers informatiques

- Des registres mentionnant pour chaque produit testé :

* le nom, le numéro de lot, le fournisseur
* la stabilité et les conditions de stockage
* les quantités reçues et utilisées

3- Rapport :

- Analyse des résultats / statistiques
- Rédaction d'un rapport d'étude écrit comportant :

* les méthodes utilisées
* l'ensemble des résultats et analyses statistiques
* l'interprétation / la discussion
* les perspectives

Animaleries et unités d'expérimentation

Les installations de soin et d'utilisation des animaux pour la recherche, l'enseignement et les tests doivent favoriser le bien-être et la sécurité des animaux, fournir un espace de travail approprié et sécuritaire au personnel tout en créant un environnement stable pour la recherche.

I-Différentes zones constituent une animalerie :

• unités d'hébergement des animaux,
• salles d'expérimentation et laboratoires,
• salles de stockage de matériels, d'aliments, litières,
• laveries,
• circulations permettant de respecter le principe de la marche en avant,
• sas et vestiaires,
• infirmerie pour l'isolement d'animaux présentant des symptômes.

II- Conception d'une animalerie d'expérimentation :

Une animalerie doit être conçue de façon à faciliter la recherche impliquant des animaux et à minimiser les variables expérimentales tout en répondant aux besoins physiologiques, sociaux et comportementaux des animaux d'expérimentation. Cela peut s'avérer une tâche difficile à accomplir, spécialement lorsqu'on prend en considération les besoins des différentes espèces et les exigences des expériences. Afin de tenir compte de ces besoins, une animalerie requiert des aires séparées pour des fonctions spécifiques, des salles et de l'équipement spécialisés et des milieux où les paramètres environnementaux sont soigneusement contrôlés

1. Exigences fonctionnelles pour l'ensemble de l'animalerie

Le but d'une animalerie est de confiner les animaux dans un environnement confortable, sécuritaire et stable propice à la recherche, à l'enseignement et aux tests. Le statut sanitaire de ces animaux varie souvent ; les installations doivent donc prévoir des barrières et des opérations de routine qui visent à réduire la contamination croisée. De plus, ces animaux défèquent et urinent dans leurs cages, ce qui contribue à la contamination de leur environnement

- Les animaleries doivent être conçues de façon à faciliter le processus de nettoyage et de désinfection.
- Les matériaux et les produits de finition doivent être durables, imperméables et résistants à l'eau et aux produits chimiques utilisés pour leur désinfection.
- On doit prévoir des équipements de désinfection et, si nécessaire, de stérilisation, d'une dimension suffisante pour répondre aux besoins de l'animalerie (p. ex., lave-cages, autoclave).

- Il faut offrir en tout temps aux animaux un air de qualité à une température et à un taux d'humidité appropriés.
- Des systèmes de sécurité doivent restreindre l'accès aux seules personnes autorisées.
- Les groupes d'animaux ayant un statut sanitaire différent ou inconnu doivent être hébergés séparément.
- Des espaces de rangement adéquats doivent être disponibles pour les cages et les équipements qui ne sont pas utilisés.
- Il faut aménager des lieux distincts pour les activités propres et les activités sales dans une animalerie pour réduire la possibilité de contamination croisée.
- Il faut prévoir des espaces désignés à l'intérieur d'une animalerie pour effectuer les procédures sur les animaux.

2. Emplacement

Le choix du site d'une animalerie est extrêmement important et mérite d'être considéré très sérieusement.

-Les animaleries doivent être situées de façon à faciliter la réception des animaux et des fournitures ainsi que l'élimination des déchets. Elles doivent aussi être faciles d'accès pour les utilisateurs.

- Les animaleries doivent être situées de façon à prévenir l'accès au public et à éviter le déplacement des animaux et des cages sales à travers les lieux publics.

- Les animaleries doivent avoir accès à des services fiables incluant l'électricité, l'eau et les égouts.

- Les animaleries doivent être situées de façon à avoir accès à de l'air de qualité et de telle sorte que l'air évacué ne retourne pas à l'intérieur de l'animalerie ou d'autres bâtiments. Si ce n'est pas possible, l'air doit être traité de façon appropriée à son point d'entrée et (ou) d'évacuation.

3. Composantes de base d'une animalerie

3.1 Locaux d'hébergement

-- Il faut prévoir des locaux d'hébergement séparés : 1) pour chaque espèce ; 2) pour chaque groupe d'animaux de la même espèce dont le statut sanitaire est différent ; et 3) lorsque les soins à prodiguer aux animaux et leur utilisation diffèrent de façon marquée.

- La dimension d'un local d'hébergement est déterminée par l'espèce, le nombre d'animaux, le type d'hébergement, le but d'utilisation des animaux et les besoins nécessaires. La pièce doit héberger confortablement les animaux dans un environnement approprié, avec suffisamment d'espace pour leur donner tous les soins nécessaires.

3.2 Salles de procédures

- Les procédures invasives pouvant causées de la détresse chez les autres animaux doivent être effectuées dans une salle de procédures plutôt que dans un local d'hébergement.
- L'animalerie doit posséder des salles de procédures bien aménagées afin de réduire la nécessité de transporter les animaux dans un laboratoire situé à l'extérieur de celle-ci.
- Une salle de procédures séparée doit être utilisée lorsque de l'équipement spécialisé est requis et (ou) lorsque les procédures effectuées exigent un minimum de distraction.

3.3 Unité de chirurgie

- Les interventions chirurgicales doivent être effectuées sous des conditions d'asepsie et selon les normes vétérinaires actuellement reconnues.

Les animaleries nécessitent fréquemment des installations permettant d'effectuer des interventions chirurgicales sur des animaux d'expérimentation.

3.4 Débarcadères – propres et sales

La réception du matériel propre (p. ex., animaux exempts d'anticorps de virus, nourriture, litière) et la réception et l'enlèvement du matériel sale (p. ex., animaux de source inconnue, litière souillée) doivent être séparés. Les débarcadères doivent être conçus de façon à empêcher l'entrée de vermine dans l'animalerie.

3.5 Aire de réception des animaux

Il faut prévoir un espace ventilé séparé pour recevoir, examiner et héberger, au besoin, les animaux dans un environnement approprié avant de les introduire dans un local d'hébergement.

3.6 Entreposage des aliments et de la litière

La nourriture et la litière doivent être entreposées dans une pièce à l'épreuve de la vermine et ne doivent pas être entreposées à même le sol

3.7 Entreposage des déchets

- L'entreposage des déchets doit se faire dans un endroit assez grand pour contenir tous les déchets accumulés entre les périodes d'enlèvement des ordures.
- Le système de ventilation du lieu d'entreposage des déchets doit être conçu de manière à ce que l'air évacué de cette zone ne puisse entrer dans aucune partie du bâtiment ou des bâtiments avoisinants.
- Les déchets biologiques dangereux, les matières dangereuses et les déchets contenant des radionucléides doivent être entreposés séparément, à des endroits appropriés et désignés à cette fin, et éliminés conformément aux règlements fédéraux, provinciaux et municipaux.

3.8 Élimination des déchets

Tous les déchets doivent être éliminés de façon sécuritaire. Si les services locaux ne sont pas en mesure de le faire, il faut alors inclure dans les plans un espace et un équipement appropriés pour l'élimination sécuritaire des déchets.

3.9 Lavage et stérilisation des cages et du matériel

- Les activités propres et les activités sales effectuées dans la salle de lavage doivent être séparées l'une de l'autre.
- La salle de lavage doit avoir une ventilation adéquate afin d'assurer un milieu sécuritaire pour les humains et d'empêcher la vapeur et les contaminants de se répandre.
- L'entrepôt des cages sales doit être assez spacieux pour contenir toutes les cages sales en attente d'être nettoyées, à moins qu'il existe d'autres zones d'entreposage désignées et munies d'une ventilation adéquate.
- La pression différentielle du côté sale de la salle de lavage doit être fortement négative par rapport à toutes les aires environnantes.
- Les lave-cages mécaniques doivent être d'une dimension convenant à l'usage prévu et doivent permettre une désinfection efficace des cages mobiles. L'efficacité réelle du lave-cages doit être vérifiée régulièrement en mesurant la température et en effectuant un contrôle microbiologique.
- Il faut prévoir des lave-cages mécaniques ou des aires désignées pour le lavage sous pression de l'équipement de grande dimension comme les supports à cages et les grandes cages.

3.10 Entreposage des cages et du matériel propres

Une aire d'entreposage propre et adéquate doit être disponible pour ranger le matériel propre inutilisé. Le matériel propre ne doit pas être entreposé dans les corridors ou dans les locaux d'hébergement des animaux.

3.11 Stérilisation

Il est souvent nécessaire de stériliser les cages, les bouteilles d'eau, la litière, la nourriture et d'autres pièces de matériel devant être utilisées dans l'animalerie ou à l'intérieur de zones spécifiques. Cette stérilisation se fait normalement par des moyens physiques et (ou) chimiques tels que les autoclaves et la fumigation.

Il faut choisir des méthodes de stérilisation à la fois sécuritaires et efficaces pour le besoin visé. Il faut installer l'équipement de stérilisation pertinent aux endroits où il sera le plus efficace, par exemple à l'intérieur de l'aire où il sera utilisé ou au carrefour des aires de l'animalerie.

Manipulation sur l'animal de laboratoire

1-Facteurs influençant les résultats en expérimentation animales

Il existe de nombreux facteurs qui peuvent influencer la réaction d'un animal de laboratoire au cours d'une expérimentation. Ces facteurs peuvent être classés en plusieurs points ; facteurs liés à l'animal, facteurs physiques et l'environnement, facteurs liés à l'entretient et soins habituels et facteurs liés à la manipulation et l'investigation expérimentales mêmes.

1.1-Facteurs liés à l'animal

Les facteurs liés à l'animal concernent sa physiologie et ses caractéristiques. Ils regroupent

- l'âge et le sexe de l'animal
- sa constitution génétique
- sa flore microbienne
- les rythmes biologiques
- les maladies qu'il peut développer

2.1- Facteurs physiques et environnement

En plus des facteurs intrinsèques liés à l'animal et à sa physiologie, il existe un certain nombre de facteurs qui sont présents dans son l'environnement et qui peuvent interférer avec les manipulations expérimentales. Ces facteurs sont généralement :

- La température de la pièce
- L'humidité relative
- La ventilation
- L'éclairage
- Le bruit
- La nourriture et l'eau.
- La litière

1.3- Facteurs liés aux manipulations courantes

Ces facteurs représentent une source supplémentaire de stress pour l'animal. Ces facteurs peuvent induire des perturbations des processus physiologiques et biochimiques de l'animal et affectent son comportement. Ces facteurs sont généralement :

- Les conditions d'hébergement
- Les manipulations par le personnel d'entretien et le personnel de recherche.

1.4-Facteurs liés aux investigations scientifiques

Ces facteurs relèvent de la manipulation de recherche. Elle peut causer d'importantes perturbations à l'animal à cause de la douleur, la durée, la fréquence des prélèvements…etc.

1.4.1- Moment et durée de manipulations

Si les prélèvements sont répétés plusieurs fois, exemple : prélèvement de sang tous les jours, ils devraient se faire à chaque fois au même moment.

La durée des manipulations doit être uniformisée.

1.4.2- facteurs expérimentaux et stress

Certaines pratiques expérimentales induisent un stress important à l'animal et risquent par conséquence de fausser les résultats recueillis juste après. Pour des raisons de bien de l'animal mais aussi pour des raisons scientifiques, il est recommandé d'habituer l'animal aux différentes manipulations et appareils de contention avant le début réel de la recherche.

1.4.3- la douleur

La douleur est un facteur important causant le stress chez l'animal, pendant ou après les manipulations expérimentales. Son intensité et sa durée varient selon le type de manipulation (injection, chirurgie…) la durée et la fréquence des manipulations, la dose de produit administré, la dose et le moment de l'administration de l'analgésique et aussi l'habilité du manipulateur.

Une douleur non traitée influence plusieurs aspects de la biologie et la physiologie de l'animal.

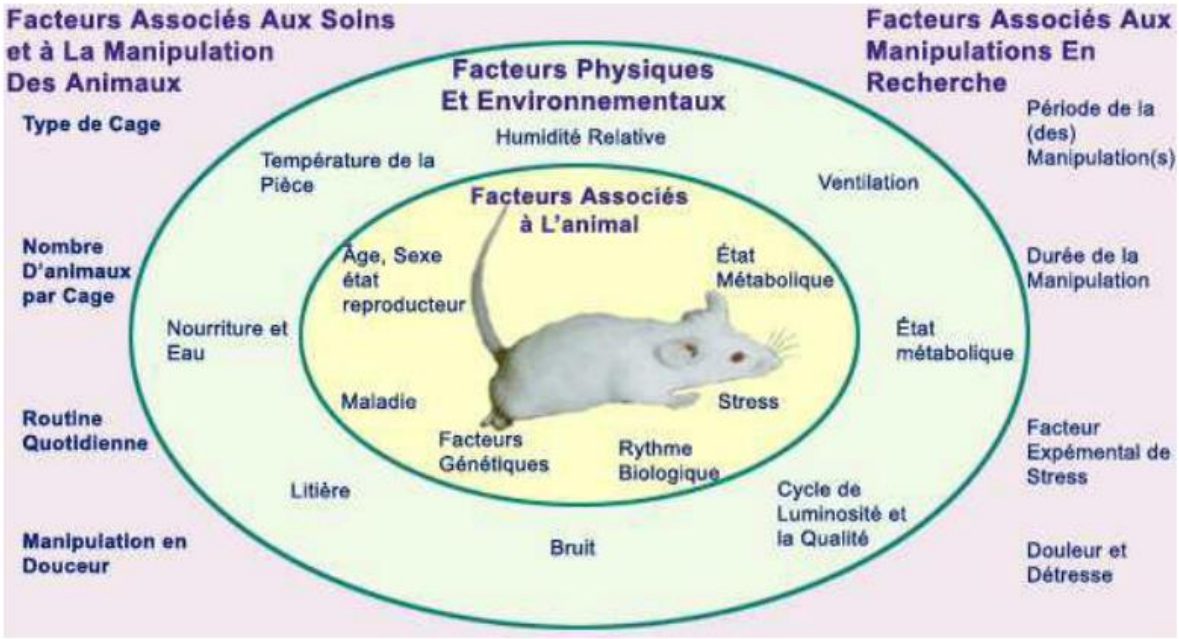


Figure : Facteurs influençant la réponse du modèle animal.

2-Manipulations sur l'animal

2.1-La contention

La contention est la manière de soulever et de fixer un animal sans lui causer de souffrances inutiles. Elle permet de minimiser les mouvements de l'animal lors des manipulations, administration de substances, injections, prélèvements… etc.

Une contention erronée peut provoquer un stress à l'animal, réaction agressive (morsures, fuite…). Il existe des appareils de contention qui facilitent grandement ces manipulations.

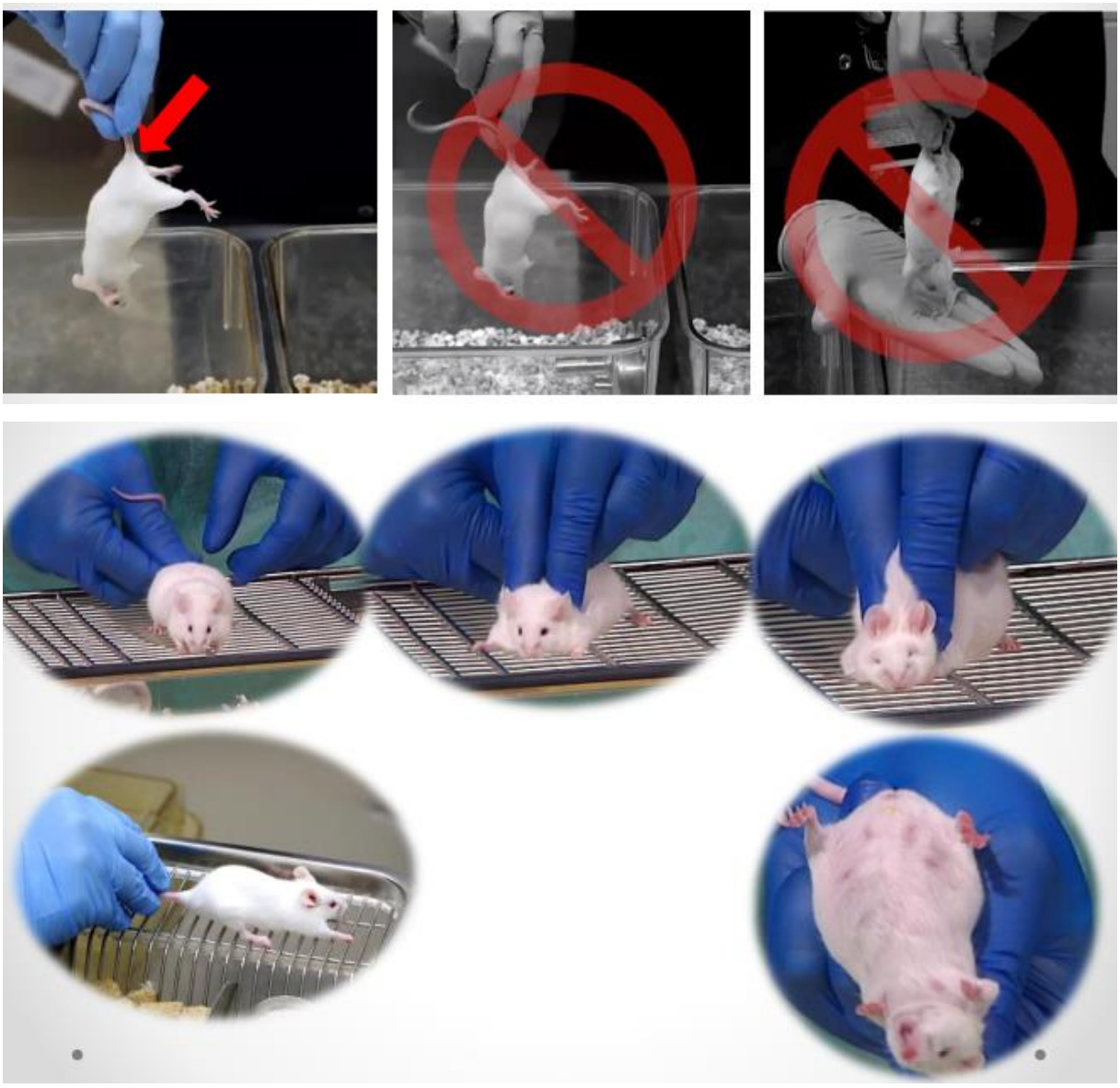


Figure 1 : Contention des souris : Contention manuelle, manipulation par une seule personne

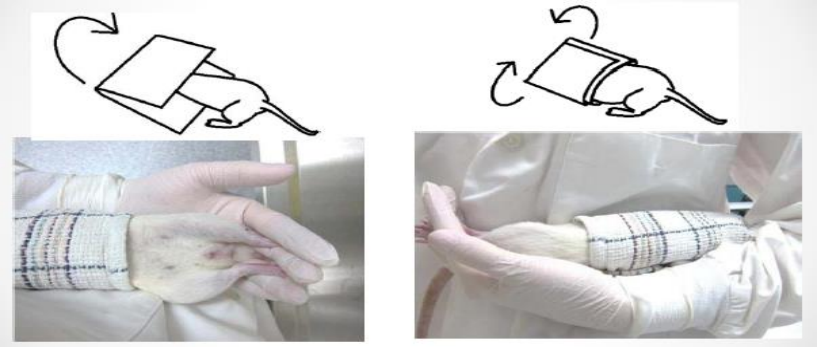


Figure 2 : Contention des rats : Contention manuelle, manipulation par une seule personne



Figure 3 : Contention manuelle d'une souris pour administration par voie orale, injection intrapéritonéal



Figure 4 : Contention manuelle d'un rat. Cette posture permet le gavage (administration intragastrique) ou injection intrapéritonéal





Figure 5 : Boite de contention pour souris avec accès à la queue. Cette boite (Ø 32mm, longueur réglable) permet, en plus de la fixation de l'animal, de pratiquer des injections et prélèvement de sang à partir de la queue. La façade est perforée pour la respiration normale



Figure 6 : Boite de contention pour souris. Perforée à plusieurs endroits et en plus de l'accès à la queue, elle permet de faire des prélèvements et injections dans différentes

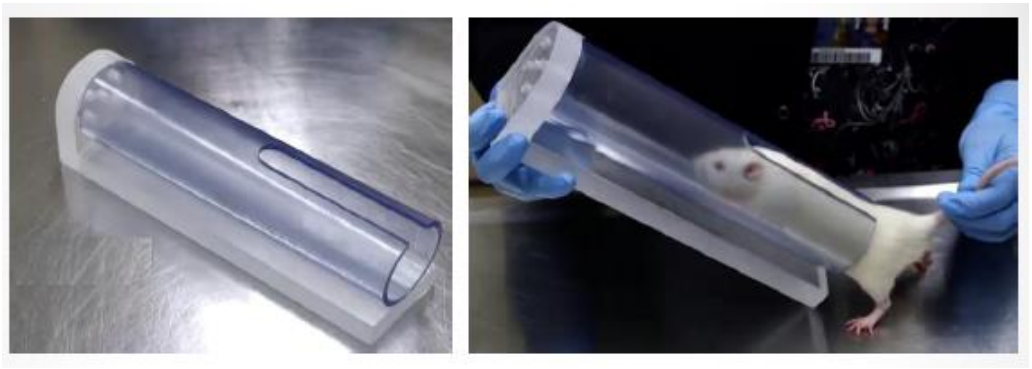


Figure 7 : Contention des rats : Contention mécanique

2.2 -Notion de souffrance et réglementation

a- La douleur : désigne une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à une atteinte tissulaire réelle ou potentielle. Elle peut induire des réactions de défense, d'évitement et de stress et modifier certains aspects du comportement naturel des espèces, y compris leur comportement social.

b- La souffrance : désigne l'expérience désagréable et non désirée d'un animal due à divers stimuli nocifs et/ou l'absence de stimuli positifs. L'état de souffrance s'oppose à l'état de bien-être.

c- La détresse : désigne l'état d'un animal incapable de s'adapter à des facteurs de stress, lequel se manifeste par des réponses physiologiques ou comportementales anormales. La détresse peut être aiguë ou chronique et peut avoir des conséquences organiques.

d- Le point limite : désigne le moment à partir duquel la douleur ou la détresse d'un animal d'expérimentation doit être évitée, supprimée, atténuée ou réduite par des mesures telles que l'administration de traitement soulageant la douleur et/ou la détresse, l'arrêt de la procédure douloureuse, le retrait de l'animal de l'étude ou l'euthanasie de l'animal dans des conditions décentes.

Dans le cadre de l'expérimentation, cette sensibilité peut s'exercer vis-à-vis des conditions appliquées à l'animal de laboratoire (manipulations, contention, environnement…). Il est reconnu que le stress ou la souffrance ont des conséquences sur le fonctionnement de l'organisme. Il faut donc minimiser ces réponses émotionnelles d'une part pour le respect de l'animal et d'autre part pour avoir des données scientifiques de qualité.

Les animaux, comme les humains, sont des êtres sensibles à la douleur. Cette vérité oblige à maintenir en vie dans des conditions très contrôlées et soumises aux législation et normes nationales et internationales.

Des établissements d'expérimentation possédant des conditions d'élevages qui répondent à toutes les normes imposées, sont les seuls fournisseurs et les seuls autorisés à faire de l'élevage des animaux.

De plus, l'expérimentation doit avoir lieu dans un établissement agréé et ne peut être conduite que par une personne titulaire d'une autorisation nominative d'expérimenter sur les animaux. Enfin, la loi oblige les expérimentateurs à réduire toutes formes de souffrance ou d'angoisse, par exemple : le recours aux analgésiques, est très courant.

Les différentes lois obligent le personnel des traiter les animaux de laboratoire avec soin et respect. Tout manquement à cette règle expose le personnel de recherche ou les établissements responsables à des sanctions pénales.

Le rôle de certaines associations de protection des animaux est primordial dans les dénonciations de certaines pratiques qui ne sont pas en conformité avec les lois et les législations en matière d'expérimentation animale en vigueur. Ces associations affirment que ces lois ne sont pas appliquées, s'appuyant sur divers exemples dénoncés par leurs enquêteurs infiltrés dans des laboratoires/centres d'élevages. Le travail de ces commissions a permis d'établir les réglementations et lois en expérimentation animale et adoptés à différents niveaux : nations et gouvernements, commission Européenne … etc.

3- Le transport des animaux de laboratoire

Les animaux doivent être transportés dans des conditions adaptées à leurs besoins physiologiques et comportementaux et à leur statut d'animal indemne d'agents pathogènes tout

en veillant à leur assurer un confinement physique adéquat et à les préserver de tout contaminant. La durée du trajet des animaux doit être la courte possible. En outre, pour tous voyages de plus de 65 km, les établissements assurant le transport doivent être titulaires d'une autorisation administrative préalable qui ne peut leur être délivrée qu'après vérification du respect des exigences en matière de personnels, d'équipements et de procédures opérationnelles.

Il est important de s'assurer que le *voyage* a été bien planifié, que les membres du personnel-clé en charge des animaux sont identifiés et que les documents appropriés accompagnent le transport animaux afin d'éviter tout retard inutile au cours du trajet entre l'expéditeur et le destinataire.

Le transport des animaux de laboratoires (par route, mer ou air) est réglementé et soumis à contrôles officiels dans les mêmes conditions que celui des autres animaux par le règlement (CE) n°1/2005 relatif à la protection des animaux pendant le transport et les opérations annexes (ex. préparation, mise en cage, chargement, déchargement) qui exige dans tous les cas :

- que la sécurité des animaux soit assurée (en terme de manipulations, d'équipements utilisés, moyens de transport, conditions de transport)
- que les animaux soient manipulés sans recours à la violence ni à des méthodes susceptibles de les effrayer inutilement ou de leur infliger des souffrances évitables
- que des intervalles de repos, abreuvement, nourriture, soins courants ou premiers soins (le cas échéant) leurs soient garantis selon des modalités définies en fonction des espèces.

Les pratiques en expérimentation animale :
Méthodes et voies d'administration

Plusieurs méthodes d'administration sont proposées afin de faciliter l'introduction des différentes substances tout en minimisant les douleurs et les souffrances qui peuvent accompagner ces manipulations. Il est important de signaler et de vérifier l'état et la disponibilité du matériel nécessaire avant l'immobilisation de l'animal.

1- Administration Intranasale (IN)

Après la contention de l'animal, une seringue ou une pipette sont utilisées pour faire inhaler à l'animal la substance à administrer. Le geste peut être répéter jusqu'à l'administration de la quantité totale désirée.



Figure 1 : Injection intranasale. Les narines du rat étant dirigées vers le haut

2- Intramusculaire (IM)

Une fois les animaux sont bien immobilisés et l'une des pattes arrière est libre et stabilisée, l'injection peut être faite, en utilisant une seringue. L'aiguille doit être introduite perpendiculairement à la peau de l'animal. En utilisant une seringue de taille appropriée et une aiguille, l'injection se fait dans le quadriceps de l'animal (l'avant de la cuisse) ou du côté latérale de la cuisse. Il faut éviter d'injecter dans le côté postérieur de la cuisse car il est possible d'endommager le nerf sciatique. On peut alterner les jambes si l'animal doit recevoir des injections intramusculaires multiples.



Figure 2 : Contention pour l'injection intra-musculaire



Figure 3 : Injection intramusculaire, ici l'animal est sous anesthésie, la manipulation se fait par une seule personne.

3- Intrapéritonéale (IP)

L'animal est immobilisé selon une contention qui fixe la nuque et le dos de l'animal ce qui permet d'exposer l'abdomen pour l'injection. On localise la ligne médiane de l'animal et on divise mentalement l'abdomen en quadrants. Les quadrants inférieurs et surtout le quadrant inférieur droit sont les sites appropriés pour les injections intra-péritonéales. Le quadrant inférieur droit est choisi en raison de l'absence de structures anatomiques importantes. IP se fait à l'aide d'une seringue de taille appropriée et d'une aiguille. On alterne les sites d'injection si l'animal doit recevoir des injections répétées.



Figure 4 : Contention pour administration intra-péritonéale

4- Sous-cutanée (SC, LQ)

La contention de l'animal doit permettre une certaine mobilité de la peau. La peau dorsale est généralement privilégiée pour ce type d'administration. Si les injections sont répétées, on change les sites d'injections. On saisit la peau et on la tire vers le haut, on insert l'aiguille à un angle de 30 à 45°. Il faut s'assurer que le bout de l'aiguille est bien sous la peau. Si l'injection est réussie, il se formera un petit gonflement sous la peau. Après l'injection, on applique une légère pression pour empêcher le retour du produit injecté.



Figure 5 : Injection sous- cutanée

5- Intravasculaire

Les veines gauche et droite arrière latéraux sont la voie d'accès la plus courante utilisée en IV chez les souris et les rats. D'autres voies d'accès vasculaires sont possibles chez les souris et les rats, mais exigent généralement une sédation et soulagement de la douleur post-injection. Pour une injection dans la veine caudale, retenir l'animal dans une boite de contention. La queue est placée sous une lampe ou sur un dispositif de réchauffement protégé. Cette pratique permet de promouvoir la dilatation des veines et faciliter ainsi l'injection La queue est ensuite tenue par la pointe et est retournée d'un ¼ de tour pour voir les veines (latérale ou dorsale). L'insertion de l'aiguille se fait avec un angle de 15-20 °. L'injection se fait lentement. Le succès de l'injection se traduit par un blanchiment transitoire de veine au point de l'injection.

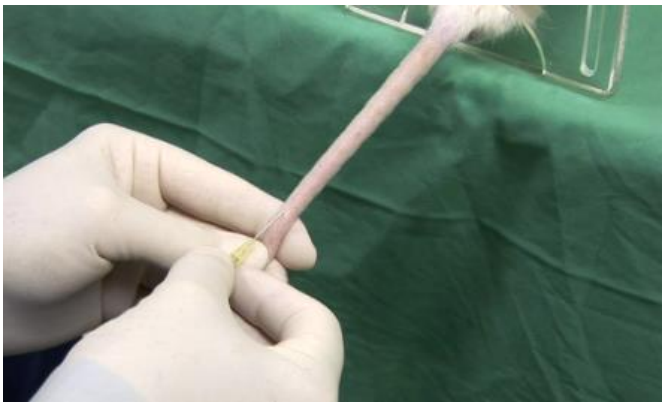


Figure 6 : Injection intravasculaire

6- Intragastrique (gavage)

Le gavage ne doit se faire que sur les animaux sobres et éveillés. L'anesthésie ou la sédation augmente le risque d'aspiration du produit et son passage dans les poumons. Des aiguilles spéciales, appelées sondes de gavage sont utilisées. Elles ont des pointes à billes à la fin pour

empêcher leur passage dans la trachée. L'animal est retenu de telle sorte que sa tête et le corps sont dans une ligne droite verticale. Cette contention redresse l'œsophage, ce qui facilite le passage de l'aiguille d'alimentation. On insère la pointe de la sonde dans la bouche de l'animal, sur la langue. Une fois que le bout de la sonde est en place, on pousse la sonde en appuyant doucement contre le palais. Si une tension est ressentie empêchant le passage de la sonde, on peut l'ajuster et la rediriger légèrement. On continuer à passer de la sonde jusqu'à ce que la distance prédéterminée est atteinte. L'aiguille doit passer facilement, et l'animal ne doit pas haleter ou de s'étouffer. Une fois la sonde est en place, on applique l'administration la substance. Elle doit s'écouler dans l'estomac.



Figure 7 : Administration intragastrique

Les pratiques en expérimentation animale :
Méthodes de prélèvement de sang

Le sang n'est prélevé que s'il est important de la faire. Le volume prélevé et la fréquence des prélèvements doivent être limités aux justes besoins de l'expérimentation. Le volume prélevé ne doit pas causer de contraintes à l'animal.

1. Choix de la méthode de prélèvement

Le choix de la technique se base sur l'espèce utilisée, sur l'accessibilité des vaisseaux, sur la quantité de sang nécessaire, sur le nombre et la fréquence des prélèvements ainsi que sur l'expérience pratique de la personne effectuant la prise de sang.

On choisira la technique la plus ménageant pour l'animal lorsqu'on a le choix. La taille de la canule doit être adaptée au vaisseau ainsi qu'à la quantité et à la qualité de sang requise. L'implantation de cathéters doit se faire de manière antiseptique. Comme chaque anesthésie générale, surtout si elle est exécutée fréquemment, inflige une contrainte à l'animal, il faut toujours envisager la possibilité d'employer des techniques de prélèvement qui n'en nécessitent pas.

2. Volumes de prélèvement

On choisira les volumes en tenant compte de la fréquence des prélèvements, des limites des mécanismes compensatoires patho-physiologiques et de la vitesse de régénération des cellules sanguines. Un individu ne subit pas de contrainte notable (c'est-à-dire ne relevant pas de la protection des animaux) lors d'une perte de sang que s'il peut la compenser sans chute de la pression artérielle. . Pour éviter tout risque, le volume autorisé ne doit pas dépasser 20% du volume sanguin total estimé en l'espace de deux semaines (tableau 1)

Tableau 1 : volumes de sang prélevé en fonction de l'espèce.

Espèce animale	Poids corporel	Volume sanguin total	Volume du prélèvement[1)]
Rat	100 g 200 g 300 g	5 - 7 ml 10 - 14 ml 15 - 21 ml	1 ml 2 ml 3 ml
Souris	20 g 30 g	1,4 - 1,6 ml 2,1 - 2,4 ml	0,28 ml 0,42 ml
Gerbille	80 g	4,8 - 6,8 ml	1 ml
Cobaye	400 g 600 g	26,8 - 36,8 ml 40,2 - 55,2 ml	5,4 ml 8 ml
Hamster	150 g	9,75 - 12 ml	2 ml
Lapin	3,5 kg	154 - 245 ml	31 ml

3. Techniques de prélèvement de sang à recommander, acceptables ou à rejeter

La technique adéquate doit être choisie en fonction du volume de sang nécessaire et de la fréquence des prélèvements. Les techniques très contraignantes pour les individus de l'espèce animale visée ou celles qui peuvent être remplacées par des techniques moins contraignantes sont à rejeter. Les remarques concernant les techniques de prélèvement présentées ci-dessous ne sont pas exhaustives. Les techniques de prélèvements les plus courantes sont commentées.

2. Types de prélèvements

1- **La Ponction de la veine caudale latérale** : utilisée pour des prélèvements allant jusqu'à 0.15ml. C'est une technique appliquée chez le rat.

2- **L'incision de la veine caudale** : est une méthode applique sur la souris, recommandée pour des prélèvements répétés de 0.1ml.

3- **L'amputation unique de la pointe de la queue**. Cette méthode est appliqué chez la souris, la gerbille (volume 0,15ml) et plus chez le rat et le hamster. La répétition des prélèvements se fera par simple soulèvement de la croute formée sur la blessure.

4- **La ponction de la veine linguale**. Elle est recommandée chez le rat lorsque le volume du prélèvement nécessaire dépasse 0.15ml. Elle s'effectue toujours sous anesthésie générale.

5- **Le prélèvement rétrobulbaire**. Il est pratiqué chez le rat, le hamster, le rat et la gerbille et la souris. Il permet de récupérer une plus grande quantité de sang (plus de 0.15ml). Il se pratique toujours sous anesthésie générale. A cause des lésions que ce type de prélèvement peut causer notamment la cécité. Il n'est pas autorisé de le répéter sur le même œil dans un lapse de temps inférieur à deux semaine. Ce prélèvement doit être rejeté si d'autres moyens de prélèvements moins contraignants sont possibles.

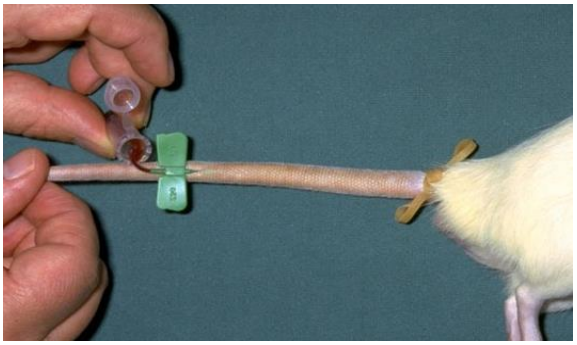


Figure 1 : Prise de sang à la veine latérale de la queue chez un rat



Figure 2 : Ponction rétrobulbaire, insertion d'un tube capillaire



Figure 3 : Prélèvement rétrobulbaire

6- **La ponction de la veine marginale de l'oreille**. Il s'agit d'une méthode appliquée surtout chez le lapin. Une vasodilatation de la veine peut être provoquée par chauffage durant 10 à 15 min. une incision de la veine peut être aussi envisagé si des volumes de sang plus importants sont nécessaires.

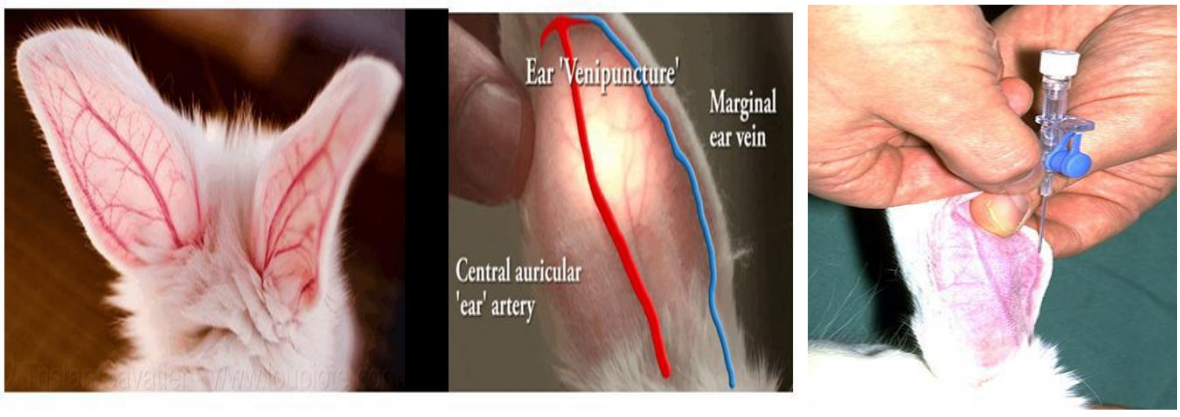


Figure 4 : Ponction de la veine marginale de l'oreille.

7- **La ponction cardiaque**. Elle est appliquée chez le cobaye, le hamster, et la gerbille et rejetée chez les autres animaux pour lesquels on dispose d'autres techniques de prélèvement permettant de récupérer une grande quantité de sang. La ponction cardiaque se fait sous anesthésie générale et par un personnel qualifié. Elle n'est pratiquée, généralement que pour une seule fois ou deux fois mais le deuxième prélèvement doit se faire sous anesthésie générale terminale.



Figure 5 : Ponction cardiaque, le rat est sous anesthésie et ventilation



Figure 6 : ponction cardiaque terminale

8- La sonde à demeure. Si les volumes de sang sont important, il faut favoriser la méthode dite sonde à demeure. Elle permet de récupérer de petits volumes d'une manière continue grâce au cathéter. Le sang prélevé est remplacé en continue par une solution de remplacement. L'implantation de cathéter se fait sous anesthésie générale souvent dans la veine jugulaire ou fémorale.

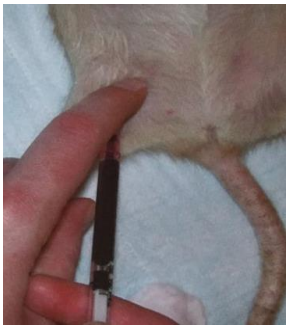


Figure 7 : Prise de sang à la veine fémorale chez un rat

3. Conséquences physiopathologiques des prélèvements de sang :

Le volume-minute du cœur est diminué après le prélèvement d'une quantité importante de sang. L'organisme essaye de compenser cette baisse et la chute de pression artérielle provoquée en augmentant la fréquence cardiaque, le reflux veineux et la résistance périphérique. La perte de volume est compensée en quelques heures par un transfert de liquide de l'espace extra-cellulaire vers l'espace intra-vasculaire, ainsi que par une excrétion diminuée d'urine et par le fait de boire davantage. Si une certaine limite est dépassée, le corps ne peut plus compenser la perte de sang malgré ses mécanismes compensatoires. Une oxygénation inadéquate provoque des dommages cellulaires et tissulaires irréversibles. Des toxines sont libérées provoquant des dommages supplémentaires. Tandis que la force de contraction du muscle cardiaque s'affaiblit, le sang s'écoule de plus en plus hors des vaisseaux dont la perméabilité est augmentée. Ceci diminue de plus en plus le volume-minute du cœur jusqu'à ce que l'animal meure.

• Un prélèvement de **10 %** du volume sanguin ne provoque pas d'effets notables sur le volume d'éjection cardiaque ou sur la pression artérielle.

• Une perte de sang brusque de **20 à 27 %** du volume sanguin peut être compensée sans chute de pression artérielle par les mécanismes compensatoires cités ci-dessus.

• Un prélèvement unique de **30%** du volume sanguin provoque une hypovolémie, également utilisée comme modèle standard dans la recherche.

• Les mécanismes compensatoires de l'organisme ne suffisent plus à corriger la perte de sang lors d'un prélèvement entre **30 et 40%** du volume sanguin.

Analgésie, Anesthésie et Euthanasie des animaux de laboratoire

1- Analgésie

L'**analgésie** est la diminution ou la suppression de la sensibilité à la douleur dans un but thérapeutique. Un analgésique (ou **antalgique**) est un médicament qui prévient ou diminue la sensation de douleur.

Certains analgésiques, en plus de soulager la douleur, ont également un effet sédatif bénéfique. Ils calment l'animal, ils permettent une réduction de la dose d'anesthésique requise et un réveil plus facile après l'anesthésie.

De plus, on considère que l'analgésie pré-opératoire permet de réduire les doses administrées après l'intervention chirurgicale.

a. Choix de l'analgésique

De nombreux facteurs doivent être considérés afin de choisir l'analgésique approprié pour l'animal et le protocole expérimental.

- Espèce animale,
- Cause de la douleur,
- Intensité de la douleur,
- Voie d'administration et volume nécessaire,
- Durée de l'effet du médicament,
- Effets secondaires,
- Effets sur les résultats de l'étude.

L'administration des analgésiques en période préopératoires a pour but principal d'inhiber ou de minimiser la sensibilisation du système nerveux. L'analgésique administré avant la chirurgie a aussi d'autres impacts positifs non négligeables :

- Prémédication : l'ajout d'un morphinique ou d'un α2-agoniste, favorise habituellement la manipulation de l'animal.

- *Induction :* l'analgésique peut potentialiser l'effet des autres drogues et ainsi permettre de réduire les doses administrées, donc de diminuer les effets sur les systèmes cardiovasculaire et respiratoire.

- ***Maintien*** : permettre une anesthésie balancée et une diminution des autres drogues administrées, l'anesthésie devant être plus stable tant en profondeur qu'en stabilité cardiovasculaire

- ***Réveil*** : un animal ayant reçu des doses analgésiques adéquates devrait avoir un réveil en douceur ainsi que des comportements plus normaux.

L'utilisation d'analgésiques en « quantité » suffisante devrait permettre une anesthésie stable

b- Les différents types Agents analgésiques

Il existe deux principaux groupes d'analgésiques :

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)
- Les opioïdes

b1. Anti-inflammatoires

Les AINS (Les anti-inflammatoires non stéroïdiens**)** inhibent la production de prostaglandines et de thromboxane à partir de l'acide arachidonique. Les prostaglandines qui sont produites au site de l'inflammation, ont un rôle important à jouer en sensibilisant les récepteurs de la douleur au site du trauma.

Les AINS empêchent la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandine par l'inhibition des enzymes cyclo-oxygénase 1 et 2 (COX-1 et COX-2). La COX-1 est normalement présente dans l'organisme, par exemple dans l'estomac et les reins, alors que la COX-2 est produite aux sites de l'inflammation. Seule l'inhibition de la COX-2 est souhaitable, mais la plupart des AINS existant actuellement agissent sur les deux enzymes, ce qui entraîne des effets secondaires indésirables. Dans le commerce, on trouve aujourd'hui certains inhibiteurs sélectifs de la COX-2.

Ces drogues sont connues pour leur pouvoir analgésique pour des douleurs d'intensité faible à modérée. Les AINS ont peu d'effets sur les systèmes cardiovasculaires et respiratoires et ne possèdent pas d'effets sédatifs. Les effets secondaires indésirables sont variables selon les espèces, mais la plupart des AINS peuvent causer des ulcères gastriques, être néphrotoxiques et entrainer de l'hypersensibilité.

Les drogues anti-inflammatoires non stéroïdiennes habituellement utilisées, sont le groupe acide carboxylique (aspirine, naproxène, acide méclofénamique, flunixin) et les acides énoliques (phénylbutazone, dipyrone et piroxicam). On utilise souvent, à faibles doses, l'aspirine, la phénylbutazone et la dipyrone.

b.1.1 Effets des AINS

Analgésie : Efficaces en cas de douleur légère à modérée

Système nerveux : Ne devraient pas avoir d'effet sédatif à dose normale

Système cardiovasculaire : Peu d'effets sur le cœur et les vaisseaux sanguins ; un effet sur l'agrégation plaquettaire

Système respiratoire : Peu d'effets ; des surdoses de certains produits peuvent mener à l'acidose

Système digestif : Tous les produits peuvent provoquer des ulcères

Système immunitaire : Les effets anti-inflammatoires peuvent inhiber la production d'anticorps

Autres : Peuvent être néphrotoxiques; possibilité d'hypersensibilité; effets métaboliques

b2. Opioïdes

Les opioïdes ont des effets qui en font des agents pré-anesthésiants utiles, soit l'antalgie (ils rendent la douleur plus supportable sans la faire disparaître complètement) et la dépression du SNC (ils ont habituellement un effet dépresseur bien que certains d'entre eux puissent provoquer une excitation et des convulsions chez certaines espèces).

Plusieurs drogues appartiennent à cette catégorie : elles peuvent soit stimuler les récepteurs (agonistes), soit les stimuler partiellement (agoniste partiel) ou les bloquer (antagoniste). Ces drogues sont utilisées lors de douleur modérée à intense.

Les opioïdes utilisés en médecine vétérinaire sont la morphine, la mépéridine, le fentanyl, l'oxymorphone, l'étorphine (M99), le carfentanilet, la buprénorphine.

Liste des effets secondaires possibles des opioïdes :

- Sédation : ces drogues ont, pour la majorité des espèces, un effet inhibiteur.
- Système cardiovasculaire : bradycardie et une chute de la tension artérielle (hypotension)
- Système respiratoire : réduction de la fréquence et du volume respiratoire
- Système digestif : diminution du péristaltisme, constipation, Les animaux n'ont plus d'appétit et peuvent refuser de manger.
- Système immunitaire : effets subtils notamment sur les cellules NK

Les opioïdes sont habituellement administrés par voie sous-cutanée mais peuvent aussi être administrés par voies intramusculaire et intraveineuse.

Nalbuphine : un analgésique légèrement moins puissant que la morphine, possédant une grande marge de sécurité et provoquant une dépression cardiovasculaire et respiratoire minime.

2-Anesthésie

Il arrive souvent que les anesthésiques agissent sur les systèmes cardiovasculaire, respiratoire et thermorégulateur en plus d'agir sur le système nerveux central (SNC). Il faut donc faire tous les efforts pour maintenir la circulation, la fonction respiratoire et la température corporelle des animaux anesthésiés à l'intérieur des limites physiologiques normales.

2.1-Anticholinergiques

Les anticholinergiques bloquent l'effet muscarinique de l'acétylcholine ; comme ce neurotransmetteur est présent en de nombreux endroits de l'organisme, les effets des anticholinergiques sont généralisés.

Les anticholinergiques bloquent la stimulation parasympathique du système cardio-pulmonaire et diminuent les secrétions salivaires. On les utilise en combinaison avec des sédatifs et des analgésiques comme prémédication à l'anesthésie générale exp : **Atropine, Glycopyrrolate.**

2.2- Tranquillisants et sédatifs

Les tranquillisants produisent un effet calmant sans sédation. Ils n'ont pas de propriétés analgésiques, et même en fortes doses qui causent de l'ataxie (défaillance de la coordination musculaire) et une dépression, les animaux se réveillent facilement

a-**Phénothiazines (promazine, acépromazine)**

b-**Benzodiazépines (diazéfam, midazolam)**

c-**Butyrophénones (azapérone, dropéridol)**

d-**Xylazine (Rompunmd) :** se fait en association avec la kétamine pour produire une anesthésie chirurgicale.

• Kétamine : l'utilisation de la kétamine seule produit chez les rongeurs une rigidité musculaire et une anesthésie insuffisante pour une intervention chirurgicale. En revanche, la kétamine peut être associée de façon intéressante à l'acépromazine, au diazépam, à la xylazine ou à la médétomidine.

2.3-Anesthésiques généraux

a- Anesthésiques dissociants

Les anesthésiques dissociants créent un état d'immobilisation chimique et une anesthésie caractérisée par la rigidité musculaire et la dissociation de l'esprit du milieu externe. Les yeux restent ouverts.

Leur combinaison avec un tranquillisant est recommandée chez la plupart des espèces, pour favoriser l'analgésie et réduire le tonus musculaire.

Exp :Hydrochlorure de kétamine, **Tilétamine.**

b- Barbituriques : Les barbituriques diffèrent des tranquillisants et des opioïdes en ce sens que l'augmentation progressive de la dose intensifie la dépression, jusqu'à ce qu'un état d'anesthésie générale soit atteint.

On peut faire une bonne anesthésie en combinant un barbiturique avec un tranquillisant, un sédatif ou un opioïde.

c- Anesthésiques par inhalation

Les anesthésiques pour inhalation ont l'avantage de requérir une détoxication minimale par l'organisme, puisqu'ils sont expirés par les poumons et que le niveau d'anesthésie peut être

contrôlé facilement et rapidement. Cependant, leur usage requiert un équipement spécial pour les administrer et une surveillance constante

c1-Agents volatils à base d'éther

Exp : Éther diéthylique, Méthoxyflurane (Métofane), Enflurane, Isoflurane.

c2- Hydrocarbures halogénés

-Halothane : c'est un hydrocarbure halogéné très puissant et très volatil. Il ne doit être utilisé qu'à l'aide d'un pulvérisateur d'une grande précision. Il produit une dépression du système cardiovasculaire, selon la dose, et de l'hypotension

2.4- Relaxants musculaires

a- Gaïacolate de glycéryle (guaiphénésine) est un relaxant musculaire qui agit sur le SNC en bloquant les neurones intercalaires de la moelle épinière.

b-Agents bloquants neuromusculaires : La succinylcholine (un agent dépolarisant), le curare, le pancuronium, la gallamine, l'atacurium et le vécuronium

2.5- Anesthésiques locaux et régionaux

Les anesthésiques locaux soulagent la douleur en empêchant les stimuli douloureux d'atteindre le système nerveux central (cerveau et moelle épinière).

Les anesthésiques locaux, comme la lidocaïne, la procaïne, la bupivacaïne et la tétracaïne, peuvent servir à bloquer l'innervation d'une région limitée pour exécuter des procédures mineures ou rapides.

2-5 Effets secondaires des anesthésiants :

Comme beaucoup d'autres médicaments, les anesthésiques ont également des effets indésirables dont on doit parfois tenir compte, que l'animal soit anesthésié en vue d'une intervention chirurgicale ou de l'étude physiologique d'un système d'organes. Les effets secondaires qui sont présentés ci-dessous se produisent dans une plus ou moins grande mesure en présence de tous les anesthésiques généraux.

Dépression du système nerveux central (SNC) : Les anesthésiques courants produisent une dépression du SNC qui aboutit à une perte de conscience. Cependant, il subsiste une certaine activité neuronale.

Dépression cardiovasculaire. Généralement, l'anesthésie entraîne une réduction du débit cardiaque et une chute de la pression artérielle.

Dépression respiratoire. L'un des effets des produits anesthésiants est la perte du tonus musculaire et la diminution de la contractilité.

Dérèglement de la thermorégulation. Les produits anesthésiants inhibent les processus de thermorégulation (maintien de la température de l'organisme). Ils agissent sur les centres thermorégulateurs du cerveau et sur les mécanismes tels que le frisson.

Dépression de la sécrétion hormonale. Généralement, l'anesthésie entraîne une dépression de la sécrétion hormonale. Certains anesthésiques généraux peuvent provoquer un accroissement de la sécrétion de prolactine.

Dépression d'autres fonctions. L'anesthésie générale produit une dépression de la motilité gastro-intestinale et de la fonction hépatique. L'excrétion d'urine diminue également.

3-Euthanasie

Le terme euthanasie : eu (bon) et thanatos (mort) : désigne une mort douce

L'euthanasie signifie une mort douce. Dans le contexte des animaux en science, cela consiste à faire tout ce qui est humainement possible pour réduire au minimum la douleur et la détresse chez les animaux compte tenu des circonstances (incluant les objectifs de la recherche) pour lesquelles un animal est euthanasié.

La méthode utilisée pour euthanasier doit être humanitaire : c'est à- dire qu'elle doit être sans douleur et engendrer un minimum de peur et d'anxiété, être fiable, reproductible, irréversible, simple, sûre et rapide. Dans la mesure du possible, elle doit aussi être esthétiquement acceptable pour celui ou celle qui l'exécute ainsi que pour tout observateur.

Causes : Dépression directe des neurones, la perturbation physique de l'activité cérébrale…

But : Les animaux en science sont euthanasiés pour diverses raisons, notamment pour :

- fournir des cellules ou des tissus pour la recherche in vitro;
- prélever du sang, des tissus ou d'autres échantillons à la fin d'une étude;
- effectuer des diagnostics ou des études de pathologie vétérinaire;
- éviter la douleur ou la souffrance inutile lorsque le point limite approuvé est atteint;
- éliminer les animaux (à la fin d'une étude; si des animaux excédentaires ont été produits dans le cadre d'un programme d'élevage) lorsqu'aucune autre utilisation ne peut leur être attribuée en accord avec le principe des Trois R.

3.1-Critères pour une mort humanitaire

L'euthanasie requiert le respect de l'animal, les compétences voulues, et une compréhension des nombreux facteurs qui interviennent dans le choix d'une méthode appropriée. Les exigences

fondamentales d'une méthode d'euthanasie sont la perte de conscience rapide (immédiate) suivie de la mort, et la réduction au minimum de toute douleur ou détresse chez l'animal.

a) la mort doit survenir sans signes de panique, de douleur ou de détresse ;
b) il doit y avoir perte de connaissance dans les plus brefs délais, c'est-à-dire presque sur-le-champ ;
c) la méthode doit être sûre et reproductible ;
d) la sécurité du personnel doit être assurée ;
e) elle doit produire le minimum d'effets physiologiques et psychologiques sur l'animal ;
f) elle doit être conforme aux exigences et aux buts de l'étude ;
g) elle doit produire un minimum d'effets émotifs sur l'observateur et sur le personnel qui effectue l'euthanasie ;
h) elle doit avoir un impact minimum sur le milieu ou sur l'écologie ;
i) l'équipement doit être simple, peu coûteux, et requérir relativement peu d'entretien ;
j) l'endroit doit être éloigné et séparé des locaux d'hébergement des animaux.

3-2 Choix d'une méthode d'euthanasie appropriée

Il est important de tenir compte des répercussions d'une méthode d'euthanasie proposée sur les résultats de recherche puisque certaines méthodes peuvent affecter les tissus animaux. Pour obtenir plus d'information sur les effets possibles de l'euthanasie sur certaines espèces.

3.2-1 Méthodes d'euthanasie

a. Physiques

Le caractère humain de toute méthode physique d'euthanasie dépend en grande partie des compétences de la personne qui effectue la procédure et du bon fonctionnement de l'équipement utilisé. En plus de devoir évaluer au préalable les compétences de cette personne, le choix d'une telle méthode demande à être justifié auprès du comité de protection des animaux.

Les méthodes physiques d'euthanasie incluent l'abattage : luxation cervicale, l'électrocution, la lacération de la moelle, la décapitation, l'abattage à l'arme à feu, la macération, l'irradiation par micro-ondes et l'exsanguination.

b. chimiques

b-1 Agents pharmacologiques non inhalés

La majorité des drogues injectables utilisées comme anesthésiques sont acceptables pour l'euthanasie, à condition que la surdose soit exacte. La voie d'injection préférée est la voie

intraveineuse (IV). On doit en même temps immobiliser adéquatement l'animal pour qu'il soit confortable et, autant que possible, pour qu'il soit exposé à un minimum de stress ou d'anxiété. Les dérivés de l'acide barbiturique (barbituriques), Le T-61, L'hydrate de chloral, L'hydrochlorure de kétamine, le sulfate de magnésium.

Le T-61 employé pour l'euthanasie est un mélange injectable composé d'un anesthésique local, un narcotique puissant et d'un paralytique. Son usage n'est recommandé pour aucune espèce.

Le T-61 doit être administré par voie intraveineuse à la dose et à la vitesse d'injection recommandées par le fabricant en raison de la modification du taux d'absorption et du délai d'action des ingrédients actifs lorsqu'il est administré par d'autres voies.

b-2 Méthodes chimiques par immersion

Tricaïne méthanesulfonate (MST ou MS 222)

La tricaïne méthanesulfonate est un dérivé de l'acide benzoïque qui est utilisé pour l'anesthésie des poissons et des amphibiens et qui peut aussi être utilisé pour l'euthanasie chez ces espèces. L'immersion doit être suivie par une méthode physique ou chimique pour provoquer la mort cérébrale.

c. Anesthésiques par inhalation

L'administration par inhalation d'une surdose d'un anesthésique couramment utilisé, comme l'halothane ou l'isoflurane, peut être une méthode d'euthanasie efficace pour de nombreuses espèces.

Le dioxyde de carbone (CO2) est une méthode d'euthanasie couramment utilisée pour les rongeurs, notamment lorsque le nombre d'animaux est élevé. Cependant, cette méthode est considérée comme acceptable sous condition pour les animaux de laboratoire de petite taille et ne devrait pas être utilisée si d'autres méthodes conviennent pour l'étude et l'espèce.

Le **protoxyde d'azote,** est un gaz anesthésique utilisé pour induire une anesthésie pendant toute la durée d'une opération. Il est également connu sous le nom de « gaz hilarant ».

d. Gaz non anesthésiques

Les gaz non anesthésiques incluent le monoxyde de carbone, le gaz carbonique, l'azote, l'argon et le cyanure.

Références bibliographiques :

- Bayne K. and deGreeve P., 2003. An overview of global legislation, regulation, and policies on the use of animals for scientific research, testing or education.
- Beyer, C., Lerat-Rault, B., Munch, S., Wanert, F., & Caron, V. Risques biologiques en animalerie de recherche. *130 Avril*, 43.
- Bnouham, M. (2018). Withdrawn: Ethique des publications scientifiques en biologie et santé.
- Crettaz von Roten, F. (2019). Expérimentation animale : analyse de la controverse de 1950 à nos jours en Suisse. Éditions Livreo-Alphil.
- In Hau J. and Van Hoosier Dell R.B., Hollerhan S. et Ramakrishnan A. (2002) Sample Size Determination. Institute for Laboratory Animal Research Journal 43(4): 207-213.
- Festing M.F. (2010) Improving toxicity screening and drug development by using genetically defined strains. Methods in Molecular Biology 602: 1-21.
- Festing M.F.W. (2006) Animal models in research. Isogenic.info, http://www.isogenic.info/html/animal_
- Festing M.F.W. et Altman D.G. (2002) Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. Institute for Laboratory Animal Research Journal 43(4): 244-258.
- Festing, M. F. (1994). Reduction of animal use: experimental design and quality of experiments. *Laboratory Animals*, *28*(3), 212-221.
- Grieder F.B. and Strandberg J.D., 2003. The contribution of laboratory animals to medical progress – Past, present and future.
- Hau J. and Van Hoosier L. Jr, 2003. Handbook of laboratory animal science, second edition, Volume I essential principles and practices. Boca Raton, CRC Press : 1-11.
- Hau J., 2003. Animal models. In Hau J. and Van Hoosier L. Jr, 2003. Handbook of laboratory animal science, second edition, Volume II animal models. Boca Raton, CRC Press : 1-9.
- Hurst, S., & Mauron, A. (2012). Expérimentation animale: une pesée en déséquilibre. In *Bio-ethica Forum, Bd* (Vol. 5, No. 1, pp. 20-22).
- Johnson P.D. et Besselsen D.G. (2002) Practical Aspects of Experimental Design in Animal Research. Institute for Laboratory Animal Research Journal 43(4):202-206.

- Juin, H., NOZIÈRES, M., & Peyraud, J. L. (2014). Nouvelle de la recherche: Révision de la directive européenne sur l'expérimentation animale: qu'en est-il pour la recherche agronomique?. *INRAE Productions Animales*, *27*(1), 65-68.
- L. Jr, 2003. Handbook of laboratory animal science, second edition, Volume I essential principles and practices. Boca Raton, CRC Press : 31-50.
- Larrère, R. (2002). Éthique et expérimentation animale. *Nature Sciences Sociétés*, *10*(1), 24-32.
- Mouhoub Sayah C, Expérimentation Animale, L3 Production Animale. http://fsnv.univ-bouira.dz
- Neil, D et Donald McKay, D., 2003. Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries – les caractéristiques, la conception et le développement. Conseil canadien de protection des animaux.
- Quimby F.W., 2002. Animal models in biomedical research. In Fox J.G., Anderson L.C., Loew F.M.and Quimby F.W., 2002. Laboratory Animal Medicine, second edition. San Diego, Academic press : 1185-1225
- Picavet, S. E. (2004). Pratique de l'éthique en toxicologie réglementaire: rédaction d'une procédure fixant des points limites (Doctoral dissertation, PhD thesis, Ecole Nationae Vétérinaire de Nantes).
- Rubin, J. F., Fischer, C., Rubin, A., & Chabaud-Barandun, F. (2016). La place de l'animal dans l'expérimentation animale: du laboratoire à la nature. Société Vaudoise des Sciences Naturelles.
- Shaw R., Festing M.F.W., Peers I. et Furlong L. (2002) Use of factorial designs to optimize animal experiments and reduce animal use. Institute for Laboratory Animal Research Journal 43(4):223-232.
- Veissier, I. (1999). Expérimentation animale: biologie, éthique, réglementation. *INRAE Productions* Animales, 12(5), 365-375.
- Voillot, J. (2019). Modèles d'expérimentation animale et cicatrisation pulpaire: une revue de la littérature (Doctoral dissertation).
- Wood M.W. et Hart L.A. (2008) Selecting appropriate animal models and strains: making the best use of research information and outreach. Alternatives to Animal Testing and Experimentation 14:303-306.
- Zsürger.N, L'expérimentation animale en biologie : aspect éthique et cadre législatif

Webographie :

- https://ccac.ca/fr/formation/modules/volet-animaux-heberges-dans-des vivariums/analgesie.html
- https://www.cea.fr/drf/Pages/La-recherche/ethique-et-reglementation.aspx
- Lignes directrices du CCPA sur : la révision de protocoles d'utilisation d'animaux d'expérimentation (1997). Visitez le site Web du CCPA au www.ccac.ca